

Metisilliiniresistenttien *Staphylococcus*  
*pseudintermedius* ja *Staphylococcus aureus*  
-bakteerien esiintyminen Opaskoirakoulun koirilla

Kirjallisuuskatsaus sisältäen alkuperäistutkimuksen

ELK Matti Ollilainen

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

2014



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare - Author    Matti Ollilainen			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Metisilliiniresistenttien <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ja <i>Staphylococcus aureus</i> -bakteerien esiintyminen Opaskoirakoulun koirilla			
Oppiaine - Läroämne - Subject Kliininen diagnostiikka			
Työn laji - Arbetets art - Level Kirjallisuuskatsaus sisältäen alkuperäistutkimuksen		Aika - Datum - Month and year 18.12.2014	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 55
<p><b>Tiivistelmä - Referat – Abstract</b></p> <p>Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP) on viime vuosina muodostunut merkittäväksi ongelmaksi eläinlääketieteessä. MRSP-kannat ovat usein vastustuskykyisiä useille mikrobilääkeryhmille, mikä hankaloittaa merkittävästi näiden aiheuttamien infektioiden hoitoa. Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) on merkittävä humaanipatogeeni ja yleinen terveydenhoitoperäisten infektioiden aiheuttaja. Viime vuosina bakteerin merkitys ihmisten yhteisöissä hankittujen infektioiden aiheuttajana on myös kasvanut. Koirista eristettyjen MRSP- ja MRSA-löydösten määrä on lisääntynyt viime vuosina ympäri maailmaa, ja myös Suomessa on havaittu metisilliiniresistenttien stafylokokkien yleistymisen koirilla. Esimerkiksi vuosien 2012–2013 aikana kolmella Opaskoirakoulun koiralla todettiin MRSP-tartunta, mikä johti tarpeeseen selvittää laajemmin bakteerin esiintyvyyttä ja sen merkitystä Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa. Opaskoirakoulun tehtävänä on kasvattaa, kouluttaa ja luovuttaa käyttöön opaskoiria sokeille ja vaikeasti heikonnäköisille. MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyden pitäminen alhaisena Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa on tärkeää, sillä koirat ovat koululla ollessaan läheisessä kontaktissa toisiinsa ja koirien parissa työskenteleviin ihmisiin, mikä edistää tartuntojen leviämistä.</p> <p>Tutkielma koostuu kirjallisuuskatsauksesta ja alkuperäistutkimuksesta. Kirjallisuuskatsauksen tarkoituksen on esitellä <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ja <i>Staphylococcus aureus</i> -bakteerit sekä näiden metisilliiniresistentit kannat. Pääpaino on bakteerien ekologian ja epidemiologian kuvauksessa koirilla. Katsauksessa käsitellään myös MRSP- ja MRSA-tartuntojen torjuntaa sekä esitellään bakteerien diagnostiikkaa. Tutkielmaan sisältyvän tutkimuksen tarkoituksena oli kartoittaa MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla sekä selvittää MRSP-tartunnan riskitekijöitä positiivisiksi todetuilla koirilla.</p> <p>Tutkittava populaatio koostui Opaskoirakoulun opas- ja siitoskoirista sekä koulutettavista koirista. Tutkimuksessa näytteitä kerättiin 124 Opaskoirakoulun koirasta, joista 48 oli oppaita, 8 siitoskoiria ja 68 koulutettavia koiria. Kahdella opas- ja kahdella siitoskoiralla todettiin MRSP-tartunta. Bakteerin esiintyvyydeksi Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa arvioitiin 3 % (95 % luottamusväli: 1-5 %). MRSA-bakteeria ei todettu yhdelläkään koiralla (ylempi 95 % luottamusväli: 3 %). Todetut esiintyvyydet olivat odotettuja ja vastasivat aiemmissa tutkimuksessa todettuja esiintyvyyksiä koirilla. MRSP-riskitekijäanalyyseissä eläinlääkärikäyntien lukumäärän ja antibioottikuurien lukumäärän edellisen 12 kk:n aikana todettiin olevan yhteydessä MRSP-tartuntaan.</p> <p>Tässä tutkimuksessa eristetyt neljä ja kolme aiemmin eristettyä MRSP-kantaa tyytettiin käyttäen PFGE-, MLST- ja SCCmec-menetelmiä. Tässä tutkimuksessa eristetyistä kannoista kolme todettiin keskenään identtisiiksi. Identtiset kannat olivat sekvenssityyppejä ST45, mutta kantojen SCCmec-tyyppejä ei kyetty määrittämään. Tämän tyyppistä kantaa on aiemmin eristetty Israelissa, Thaimaassa ja Hollannissa, joista Israelissa ja Thaimaassa tämä kanta on vallitseva kanta. Myös Suomessa on aiemmin eristetty tätä sekvenssityyppejä olevia kantoja. Neljäs muista eroava kanta kuului sekvenssityyppiin ST71 ja SCCmec-tyyppiin II-III. Tämä kanta on maailman ja Euroopan laajuisesti yleisin MRSP-kanta. Suomessa kannan on aiemmin todettu aiheuttaneen Yliopistollisessa pieneläinsairaalassa vuosien 2010-2012 aikana ilmenneen epidemian.</p> <p>Kolme Opaskoirakoulun koirilta aiemmin eristettyä MRSP-kantaa erosivat toisistaan ja tässä tutkimuksessa eristetyistä kannoista. Opaskoirakoulun koirilta eristettyjen MRSP-kantojen erilaisuus lukuun ottamatta kolmea identtistä kantaa viittaa siihen, että Opaskoirakoululla ei ole laajamittaista MRSP-epidemiaa ja että tartuntalähteitä on useita. Tässä tutkimuksessa edellä mainittuja tartuntalähteitä ei kyetty tunnistamaan.</p> <p>Tässä tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella MRSP-tartuntariskiä Opaskoirakoulun koirilla voidaan pitää melko vähäisenä. Tällä hetkellä tartuntojen torjumiseksi riittävät normaalit varotoimet, joita ovat mm. hyvä käsihygienia ja tilojen sekä välineiden puhdistaminen ja desinfiointi käytön jälkeen. Opaskoirakoululla on jo nyt olemassa toimintamalleja, joilla tartuntoja pyritään ehkäisemään. Jatkossa tulee kuitenkin miettiä entistä tarkemmin tapoja erityisesti MRSP-tartuntojen torjumiseksi.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , metisilliiniresistenssi, MRSP, MRSA, koira, Opaskoirakoulu, tartunta, riskitekijä			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited Eläinlääke- ja elintarviketieteiden (EE) -talon Oppimiskeskus			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) ELT, pieneläinsairauksien erikoiseläinlääkäri, dermatologian dosentti Leena Saijonmaa-Koulumies, ELT, tarttuvien tautien erikoiseläinlääkäri Merja Rantala, ELL, tohtorikoulutettava Thomas Grönthal			

# Sisällysluettelo

I JOHDANTO.....	4
II KIRJALLISUUSKATSAUS.....	5
1 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> .....	5
1.1 <i>Staphylococcus intermedius</i> -ryhmä .....	5
1.2 <i>S. pseudintermedius</i> : kommensaali ja patogeeni.....	6
1.3 <i>S. pseudintermedius</i> -bakteerin esiintyvyys koirilla.....	6
1.4 Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> .....	7
2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
2.1 <i>S. aureus</i> -bakteerin esiintyvyys .....	19
2.3 Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
3 MRSP- ja MRSA-tartuntojen torjunta .....	23
3.1 Tartuntojen torjunta eläinklinikoilla .....	23
3.2 Tartuntojen torjunta kodeissa.....	26
4 Diagnostiikka .....	26
4.1 Fenotyyppiin perustuva lajintunnistus .....	26
4.2 Genotyyppiin perustuva lajintunnistus.....	28
4.4 MRSP- ja MRSA-kantojen tyypitysmenetelmät.....	29
III AINEISTO JA MENETELMÄT .....	32
1.1 Tavoitteet .....	32
1.2 Kohdepopulaatio ja näytteenotto .....	32
1.3 Bakteerien eristäminen ja tunnistaminen .....	33
1.4 MRSP-kantojen genotyypitys .....	34
1.5 Tilastolliset menetelmät .....	35
IV TULOKSET .....	36
1.1 Tutkitun populaation kuvaus.....	36
1.2 MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyys .....	38
1.3 Eristettyjen MRSP-kantojen ominaisuudet .....	38
1.4 MRSP:n riskitekijät.....	39
V POHDINTA .....	41
VI KIITOKSET .....	47
VII LÄHDELUETTELO .....	48
VIII LIITTEET .....	54

## I JOHDANTO

Metisilliiniresistentti *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) on viime vuosina muodostunut merkittäväksi ongelmaksi eläinlääketieteessä. MRSP-kannat ovat usein vastustuskykyisiä useille mikrobilääkeryhmille, mikä hankaloittaa merkittävästi näiden aiheuttamien infektioiden hoitoa (van Duijkeren ym. 2011). Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) on merkittävä humaanipatogeeni ja yleinen terveydenhoitoperäisten infektioiden aiheuttaja. Viime vuosina bakteerin merkitys ihmisten yhteisöissä hankittujen infektioiden aiheuttajana on myös kasvanut (Weese & van Duijkeren 2010). Koirista eristettyjen MRSP- ja MRSA-löydösten määrä on lisääntynyt viime vuosina ympäri maailmaa, mikä on johtanut tarpeeseen kehittää toimintatapoja ja -ohjeita tartuntojen torjumiseksi (Elintarviketurvallisuusvirasto 2010, Weese & van Duijkeren 2010, van Duijkeren ym. 2011).

Myös Suomessa on havaittu metisilliiniresistenttien stafylokokkien yleistymisen koirilla. Esimerkiksi vuosien 2012–2013 aikana kolmella Opaskoirakoulun koiralla todettiin MRSP-tartunta, mikä johti tarpeeseen selvittää laajemmin bakteerin esiintyvyyttä ja sen merkitystä Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa. Opaskoirakoulun tehtävänä on kasvattaa, kouluttaa ja luovuttaa käyttöön opaskoiria sokeille ja vaikeasti heikkonäköisille. MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyden pitäminen alhaisena Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa on tärkeää, sillä koirat ovat koululla ollessaan läheisessä kontaktissa toisiinsa ja koirien parissa työskenteleviin ihmisiin, mikä edistää mahdollisten tartuntojen leviämistä.

Tämä MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla käsittelevä tutkielma koostuu kirjallisuuskatsauksesta ja alkuperäistutkimuksesta.

Kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on esitellä *Staphylococcus pseudintermedius* - ja *Staphylococcus aureus* -bakteerit. Katsauksessa pääpaino on bakteerien ekologian ja epidemiologian kuvauksessa koirilla. *S. pseudintermedius* - ja *S. aureus* -lajien metisilliiniresistenttejä kantoja käsittelevissä osioissa kuvaillaan tarkemmin niillä esiintyvää mikrobilääkeresistenssiä ja arvioidaan resistenttien bakteerien tartunnalle altistavia tekijöitä. Katsauksessa pohditaan myös resistenssin kliinistä merkitystä. Bakteerien merkitystä ihmiselle on lisäksi käsitelty lyhyesti. Tartuntojen torjuntaa

eläinlääkärivastaanotoilla ja kodeissa on käsitelty omissa osioissaan. Erillisessä diagnostiikkaosiossa esitellään lisäksi yleisimmät kyseisten bakteerien lajintunnistuksessa käytetyt feno- ja genotyyppiin perustuvat menetelmät. Kantojen epidemiologisia tyyppitysmenetelmiä on myös kuvailtu lyhyesti.

Tutkielmaan sisältyvän alkuperäistutkimuksen tarkoituksena oli kartoittaa MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla sekä selvittää MRSP-tartunnan riskitekijöitä positiivisiksi todetuilla koirilla. Tutkimuksessa näytteitä kerättiin vuoden 2014 tammi-elokuun aikana yhteensä 124 koirasta. Saatujen tulosten perusteella voitiin pohtia tarkemmin Opaskoirakoululla tarvittavien varotoimien sisältöä ja laajuutta.

## II KIRJALLISUUSKATSAUS

### 1 *Staphylococcus pseudintermedius*

#### 1.1 *Staphylococcus intermedius* -ryhmä

*Staphylococcus intermedius* -laji kuvattiin ensimmäisen kerran vuonna 1976 (Hajek 1976). Vuonna 2007 genotyyppiin perustuvien menetelmien avulla *S. intermedius* -lajiksi tunnistettujen bakteerien todettiin kuuluvan useampaan kuin yhteen lajiin (Bannoehr ym. 2007, Sasaki ym. 2007). Muodostettuun *S. intermedius* -ryhmään kuuluu kolme keskenään läheistä sukua olevaa bakteerilajia: *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ja *S. delphini* (Sasaki ym. 2007). Varhaisissa tutkimuksissa koirista eristettyjen *S. intermedius* -ryhmän jäsenet on tunnistettu *S. intermedius* -lajiksi. Myöhemmissä tutkimuksissa on kuitenkin osoitettu, että koirista eristetyt *S. intermedius* -lajiksi tunnistetut bakteerit kuuluvat todellisuudessa *S. pseudintermedius* -lajiin (Bannoehr ym. 2007, Sasaki ym. 2007). *S. intermedius* -lajia on osoitettu esiintyvän koirien sijasta lähinnä villikyyhkyillä (Sasaki ym. 2007). Ryhmän kolmatta jäsentä *S. delphini* -lajia on todettu useilla eläinlajeilla, joita ovat mm. kesykyyhky, hevonen, minkki ja delfiini (Bannoehr ym. 2007, Sasaki ym. 2007, Devriese ym. 2009).

## 1.2 *S. pseudintermedius*: kommensaali ja patogeeni

*S. pseudintermedius*, aikaisemmalta nimeltään *S. intermedius*, on koirien normaalimikrobistoon kuuluva opportunistinen patogeeni, jota esiintyy koirien iholla, karvapeitteessä ja limakalvoilla (Cox ym. 1984, Weese & van Duijkeren 2010). Aiemmin on esitetty, että *S. pseudintermedius* olisi pääasiassa koiran limakalvoilla esiintyvä bakteerilaji ja että bakteeri leviää limakalvoilta muualle iholle ja karvapeitteeseen koiran mm. siistiessä itseään (Devriese & De Pelsmaecker 1988, Allaker ym. 1992, Saijonmaa-Koulumies ym. 1998). Bakteerin tavallisimmin aiheuttamia infektioita ovat iho-, haava- ja muut pehmytkudosinfektiot (van Duijkeren ym. 2011, Bannoehr & Guardabassi 2012). *S. pseudintermedius* -infektioiden taustalla ovat usein isännän immuniteetin lasku ja häiriöt ihon suojamuurissa. Infektioissa altistavia tekijöitä ovat atooppinen ihotulehdus, kirurgiset toimenpiteet, endokrinopatiat ja immunosuppressiiviset sairaudet (Bannoehr & Guardabassi 2012, Bryan ym. 2012). *S. pseudintermedius* -infektioita ei pidetä tarttuvina, mutta bakteerin on osoitettu voivan siirtyä koirien välillä (Bannoehr & Guardabassi 2012).

## 1.3 *S. pseudintermedius* -bakteerin esiintyvyys koirilla

*S. pseudintermedius* -bakteeria esiintyy tutkimuksesta riippuen 46–92 % koirista (Devriese & De Pelsmaecker 1988, Griffeth ym. 2008, Hanselman ym. 2009, Paul ym. 2012). Valtaosa esiintyvyydestä tehdyistä tutkimuksista perustuu kertanäytteenottoon. Kertanäytteenotossa on huomioitava, että sillä ei kyetä erottamaan kontaminaatiota kolonisaatiosta eikä määrittämään kantajuuden pysyvyyttä (van Duijkeren ym. 2011, Bannoehr & Guardabassi 2012). Kontaminaatiolla tarkoitetaan tässä yhteydessä bakteerin lyhytaikaista oleskelua eläimen iholla tai limakalvoilla. Kolonisaatio puolestaan määritellään bakteerin säilymiseksi ja lisääntymiseksi eläimen iholla ja limakalvoilla. Kummassakin tapauksessa bakteeria on todettavissa eläimen iholta ja/tai limakalvoilta (Bannoehr & Guardabassi 2012).

*S. pseudintermedius* -bakteerin esiintyvyydestä koirilla on tehty muutamia pitkäaikaisseurantatutkimuksia (Cox ym. 1988, Saijonmaa-Koulumies & Lloyd 2002, Saijonmaa-Koulumies ym. 2002, Paul ym. 2012). Paulin ym. (2012) melko suppeassa tutkimuksessa, joka käsitti 16 koira, 38 % (n=6) todettiin bakteerin jatkuviksi kantajiksi

(positiivisia jokaisella kymmenellä näytteenotokerralla). Tilapäisistä kantajista (n=5) 31 % oli bakteerin ajoittaisia kantajia (positiivisia vähintään kolmella peräkkäisellä näytteenotokerralla) ja 25 % (n=4) todettiin bakteerin satunnaisiksi kantajiksi (yksi tai kaksi positiivista näytettä). Koirista 6 % (n=1) ei todettu bakteeria yhdelläkään näytteenotokerralla. Koirilla bakteeria esiintyy yleisimmin peräaukon ja suun limakalvoilla (Paul ym. 2012).

Terveystila vaikuttaa *S. pseudintermedius* -bakteerin esiintyvyyteen (Bannoehr & Guardabassi 2012). Atooppista ihotulehdusta sairastavilla koirilla esiintyy huomattavasti enemmän *S. pseudintermedius* -bakteeria kuin terveillä koirilla. Bakteerin esiintyvyydessä etenkin terveiden ja sairaiden koirien ulkokorvakäytävissä on todettu merkittäviä eroja (Fazakerley ym. 2009). Fazakerleyn ym. (2009) tutkimuksessa puolella atooppista ihotulehdusta sairastavista koirista bakteeria esiintyi ulkokorvakäytävissä, kun taas terveillä koirilla bakteeria todettiin ainoastaan 7 % koirista. Atooppista ihotulehdusta sairastavilla koirilla bakteeria havaittiin tavallisesti myös useammassa kuin yhdessä näytteenottoaikassa verrattuna terveisiin koiriin (Fazakerley ym. 2010). Bakteerin esiintyvyydessä peräaukon alueen ja sierainten limakalvoilla ei sen sijaan ole havaittu merkittäviä eroja (Harvey & Noble 1994, Fazakerley ym. 2009). Erot bakteerin esiintyvyydessä johtuvat todennäköisesti bakteerin erilaisesta kyvystä kiinnittyä atooppisten ja terveiden koirien keratinosyytteihin. Tutkimuksissa on osoitettu, että bakteeri kiinnittyy paremmin atooppista ihotulehdusta sairastavien koirien keratinosyytteihin kuin terveiden koirien keratinosyytteihin (McEwan 2000, McEwan ym. 2005, Simou ym. 2005, McEwan ym. 2006).

## 1.4 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus pseudintermedius*

### 1.4.1 Mikrobilääkeresistenssi

Metisilliiniresistentiksi kutsutut *S. pseudintermedius* -kannat ovat resistenttejä kaikille beetalaktaamiantibiooteille. Resistenssi beetalaktaamiantibiooteille perustuu *mecA* -geeniin. Geeni sijaitsee bakteerin kromosomissa, stafylokokkien kasettikromosomiksi (staphylococcal cassette chromosome, *SCCmec*) kutsutussa siirtymiskykyisessä

geenielementissä (Weese & van Duijkeren 2010). *SCC<sub>mec</sub>* on toistaiseksi ainoa tunnettu *mecA*-geenin vektori stafylokokkeilla. *mecA*-geeni koodaa muuntunutta penisilliiniä sitovaa proteiinia (PBP2a) (Weese & van Duijkeren 2010). Muuntunut penisilliiniä sitova proteiini, PBP2a on molekyylipainoltaan suuri, luokan B transseptidaasientsyymi, joka vastaa peptidoglykaaniketjujen ristiinsidonnasta bakteerin soluseinämässä (Hanssen & Ericson Sollid 2006). Metisilliiniherkillä *S. pseudintermedius* -kannoilla (MSSP) beetalaktaamiantibiootit muodostavat penisilliiniä sitovien proteiinien (penicillin binding protein, PBP) kanssa pysyviä komplekseja, joiden muodostuminen estää bakteerien soluseinämän biosynteesin (Hanssen & Ericson Sollid 2006, Weese & van Duijkeren 2010). Beetalaktaamiantibiootit sitoutuvat heikosti MRSP-kantojen PBP2a-proteiineihin, mistä johtuen bakteerin soluseinämän biosynteesissä välttämättömän transseptidaasin toiminta ei häiriinny beetalaktaamien vaikutuksesta (Hanssen & Ericson Sollid 2006, Weese & van Duijkeren 2010).

MRSP-kannoilla esiintyy tavallisesti resistenssiä myös useille muille mikrobilääkkeille, jolloin kannoista käytetään nimitystä moniresistentti (Ruscher ym. 2009, Perreten ym. 2010). Moniresistenssi määritellään useimmissa lähteissä resistenssiksi kolmelle tai useammalle eri ryhmän mikrobilääkkeelle (Magiorakos ym. 2012). Moniresistenteillä MRSP-kannoilla on todettu beetalaktaamiresistenssin lisäksi resistenssiä aminoglykosideille, makrolideille, linkosamideille, tetrasykliineille, fluorokinoloneille, trimetopriimille ja kloramfenikolille (Perreten ym. 2010). Perretenin ym. (2010) tutkimusaineistossa 86 % (89/103) MRSP-kannoista todettiin resistentiksi 8 tai useammalle eri antibiootille ja ainoastaan 4 % (4/103) kannoista todettiin resistenteiksi vain beetalaktaameille. Resistenssin osoitettiin aiheutuvan hankituista resistenssigeeneistä lukuun ottamatta fluorokinoloni- ja rifampisiiniresistenssiä (Perreten ym. 2010). Fluorokinoloni- ja rifampisiiniresistenssin on todettu johtuvan mutaatioista bakteerin genomissa (Kadlec ym. 2011, Perreten ym. 2013).

Euroopassa ja Pohjois-Amerikassa vallitsevien kahden moniresistentin MRSP-sekvenssityypin ST71 ja ST68 herkkyysprofiilit ovat hyvin samankaltaiset. Tärkeimpinä eroina on havaittu, että Euroopassa vallitseva MRSP-sekvenssityyppi ST71 on useimmiten resistentti kloramfenikolille, kun taas Pohjois-Amerikassa tavattava sekvenssityyppi ST68 on tavallisesti herkkä tälle antibiootille. Molemmilla sekvenssityypeillä esiintyvän tetrasykliiniresistenssin osoitettiin myös aiheutuvan eri



geeneistä (Perreten ym. 2010). Stafylokokkeilla tetrasykliiniresistenssiä välittäviä geenejä on kahta tyyppiä: *tet(K)* ja *tet(M)*. *tet(M)*-geeniä kantavat kannat ovat resistenttejä tetrasykliinille, doksisykliinille ja minosykliinille, kun taas *tet(K)*-geeniä kantavilla kannoilla esiintyy resistenssiä ainoastaan tetrasykliinille. Euroopassa vallitsevalla sekvenssityypillä ST71 on todettu tähän mennessä ainoastaan *tet(K)*-geeniä, mistä johtuen tetrasykliineihin kuuluvia doksisykliiniä ja minosykliiniä on mahdollista käyttää tämän kantatyyppin aiheuttamien infektioiden hoidossa (Frank & Loeffler 2012). Kaikkien Pohjois-Amerikassa tähän mennessä eristettyjen sekvenssityypin ST68 kantojen on todettu kantavan *tet(M)*-geeniä, mistä johtuen tetrasykliinit eivät sovellu kyseisen kannan aiheuttamien infektioiden hoitoon (Bryan ym. 2012).

Edellä mainittujen erojen lisäksi Euroopassa vallitsevaan sekvenssityypiin ST71 kuuluvien kantojen herkkyydessä tetrasykliineille, makrolideille, linkosamideille ja kloramfenikolille esiintyy eroja. Erojen on katsottu johtuvan yksittäisten resistenssigeenien hankkimisesta tai vastaavasti niiden menettämisestä. Resistenssigeenien lisäksi herkkyysmäärittämisessä havaittavan resistenssin ilmenemiseen vaikuttaa yksittäisten resistenssigeenien ilmentyminen ja resistenssigeenien kopiomäärän vaihtelu bakteerin perimässä. Esimerkiksi aminoglykosideille esiintyvän resistenssin ilmenemisessä on todettu kantakohtaisia eroja huolimatta siitä, että kannoilla on todettu sama aminoglykosidiresistenssiä aiheuttava geeni (Perreten ym. 2010).

#### 1.4.2 MRSP:n esiintyvyys koirilla

MRSP-bakteerin esiintyvyyttä on tutkittu useissa koirapopulaatioissa (Weese & van Duijkeren 2010). Potilasnäytteissä MRSP-löydösten osuus kaikista näytteistä on useimmissa tutkimuksissa välillä 0-7 % (Murphy ym. 2009, Ruscher ym. 2009, Weese & van Duijkeren 2010, Nienhoff ym. 2011, Detwiler ym. 2013). Joissain lähteissä on esitetty myös huomattavasti edellä mainittua korkeampia lukuja MRSP-bakteerin esiintyvyydestä (Sasaki ym. 2007, Beck ym. 2012, Eckholm ym. 2013). Japanilaisessa pieneläinsairaalassa 30 % tutkituista 57 koirasta todettiin MRSP-positiiviseksi (Sasaki ym. 2007). MRSP-bakteeria on osoitettu esiintyvän muita potilaita enemmän ihosairailta koirilla (Weese & van Duijkeren 2010). Sairaalaympäristön ulkopuolella 1-

5 % kliinisesti terveistä koirista on tutkimusten mukaan MRSP-positiivisia (Vengust ym. 2006, Hanselman ym. 2009, Gingrich ym. 2011).

#### 1.4.3 MRSP-infektiot ja niiden hoito

Yleisimpiä MRSP-bakteerin aiheuttamia infektioita koirilla ovat leikkaushaava- ja muut haavainfektiot sekä iho- ja korvainfektiot (Perreten ym. 2010). Muita vähemmän yleisiä MRSP-infektioita ovat virtsatie-, nivel- ja hengitystieinfektiot (Perreten ym. 2010, Frank & Loeffler 2012). MRSP-infektioiden vakavuuden ei ole osoitettu eroavan MSSP-infektioiden vakavuudesta (Frank & Loeffler 2012). Osassa infektioita myös paranemisennuste on yhtäläinen (Bryan ym. 2012). Bryan ym. (2012) osoittivat, että *S. pseudintermedius* -bakteerin aiheuttamissa ihoinfektioissa bakteerin metisilliiniherkkyydellä ei ollut vaikutusta infektioiden paranemistulokseen. Tosin MRSP-ihoinfektiossa kliiniseen paranemiseen tarvittava hoitoaika oli pidempi kuin MSSP-ihoinfektiossa. Hoidon pidemmän keston ei katsottu johtuvan aiheuttajabakteerin resistenssistä vaan infektioiden kroonisuudesta, omistajien puutteellisesta hoitomyönteisyydestä ja samanaikaisista muista sairauksista sekä lääkityksistä. MRSP-ihotulehduksen systeemisessä hoidossa käytetyt mikrobilääkkeet aiheuttivat myös tavallista useammin lääkityksen ennenaikaiseen keskeyttämiseen johtavia haittavaikutuksia (Bryan ym. 2012).

MRSP-ihoinfektion hoidossa noudatetaan samoja perusperiaatteita kuin herkkien stafylokokkibakteerien aiheuttamien infektioiden hoidossa (Frank & Loeffler 2012). Ihoinfektion hoito perustuu infektion laajuuden ja syvyyden määrittämiseen. Mikäli hoidossa käytetään systeemisesti annosteltavaa mikrobilääkettä, käytettävä mikrobilääke tulisi valita aiheuttajabakteerin ja tämän mikrobilääkeherkkyyden mukaan. Systeemistä antotapaa käytettäessä tulee varmistua, että käytetty lääkeannos on riittävän korkea (Frank & Loeffler 2012, Beco ym. 2013). Hoidon pituus määräytyy infektion syvyyden ja mahdollisten muiden komplisoivien tekijöiden mukaan (Scott ym. 2001, Frank & Loeffler 2012, Beco ym. 2013). Komplisoituneina infektioina pidetään syviä ja toistuvia infektioita sekä immuunipuutteisilla potilailla esiintyviä infektioita (Frank & Loeffler 2012). Kirjallisuudessa suositellaan, että komplisoitumattomissa infektioissa hoitoa jatketaan 7 vrk kliinisen paranemisen jälkeen, kun taas komplisoituneissa infektioissa hoitoa tulisi jatkaa 10–14 vrk yli kliinisen paranemisen

(Scott ym. 2001). Valtaosa iho- ja korvainfektioista on toissijaisia bakteri-infektioita, joiden taustalla on primäärisyy, kuten allerginen ihosairaus, ulkoloiset, endokrinopatiat tai keratinisaatiohäiriö. Infektioiden onnistunut pitkäaikaishoito vaatii, että infektioiden taustasyyt tunnistetaan ja että syitä hoidetaan asianmukaisella tavalla (Beco ym. 2013).

Hoitoon vastaamattomissa infektioissa ja tapauksissa, joissa potilaan tiedetään altistuneen useille eri mikrobilääkkeille, on perusteltua epäillä moniresistenttiä aiheuttajabakteeria. Moniresistenttiä aiheuttajaa epäiltäessä mikrobilääkehoidon tulee aina perustua aiheuttajan tunnistamiseen ja mikrobilääkeherkkyyden määrittämiseen (Frank & Loeffler 2012). Resistenssi rajoittaa merkittävästi systeemiseen käyttöön soveltuvia mikrobilääkevaihtoehtoja (Perreten ym. 2010). MRSP-ihoinfektion systeemihoidossa tavallisimmin käytettyjä mikrobilääkkeitä ovat kloramfenikoli, rifampisiini ja amikasiini. Kloramfenikoli on Yhdysvalloissa yleisin MRSP-ihoinfektioiden systeemihoidossa käytetty mikrobilääke (Bryan ym. 2012, Frank & Loeffler 2012). Suomessa kloramfenikolia ei ole mahdollista käyttää ihotulehdusten hoidossa, sillä systeemiseen käyttöön soveltuvat kloramfenikolia sisältävät lääkevalmisteet on poistettu Euroopan markkinoilta (Leena Saijonmaa-Koulumies, suullinen tiedonanto).

Amikasiinia käytetään vain harvoin ihotulehdusten hoidossa, sillä amikasiinia sisältävät valmisteet on annosteltava parenteraalisesti (Frank & Loeffler 2012). Rifampisiini ei myöskään välttämättä sovellu käytettäväksi, sillä MRSP-bakteerin on eräässä tutkimuksessa osoitettu voivan kehittää nopeasti resistenssiä tälle lääkeaineelle (Kadlec ym. 2011). Suomessa rifampisiinin käyttö muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta on kielletty eläimille maa- ja metsätalousministeriön asetuksella eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä tai rajoittamisesta eläimillä eli lääkekieltoasetuksella (MMM 847/2008).

Eläimillä kloramfenikolin, rifampisiinin ja amikasiinin systeemiseen käyttöön liittyy lisääntynyt vakavien haittavaikutusten riski. Kloramfenikolin käytössä tavallisimmin ilmeneviä haittavaikutuksia ovat oksentelu, ripuli, anoreksia ja painonlasku. Muita harvinaisia haittavaikutuksia ovat maksatoksisuus ja palautuva luuydinloma (Bryan ym. 2012, Frank & Loeffler 2012). Lisäksi kloramfenikolia käytettäessä lääkettä käsittelevien omistajien tulee suojautua suojakäsinein ja huolehtia riittävästä käsien

pesusta, sillä kloramfenikolin on toisinaan todettu aiheuttavan vakavaa aplastista anemiaa ihmisillä (Frank & Loeffler 2012). Amikasiinilla systeemisessä käytössä esiintyviä haittavaikutuksia ovat ruoansulatuskanavaoireiden lisäksi munuais- ja ototoksisuus, perifeerinen neuropatia sekä yliherkkyysreaktiot. Rifampisiinin käyttöön liittyviä haittavaikutuksia ovat toisinaan kuolemaan johtava idiosynkraattinen maksatoksisuus ja harvinaisina esiintyvät trombosytopenia, hemolyyttinen anemia, anoreksia, oksentelu ja ripuli. Rifampisiini saattaa myös aiheuttaa ulosteiden, virtsan, hien ja kyynelten värjäytymistä oranssiksi (Bryan ym. 2012, Frank & Loeffler 2012).

Linkosamideihin kuuluvaa klindamysiiniä suositellaan usein käytettäväksi ensisijaisena mikrobilääkevaihtoehtona ihoinfektioissa. Klindamysiinillä esiintyy edellä mainittuja mikrobilääkkeitä selvästi vähemmän vakavia haittavaikutuksia, mutta tälle lääkeaineelle usein esiintyvä resistenssi rajoittaa merkittävästi sen käyttökelpoisuutta MRSP-ihoinfektioiden hoidossa (Frank & Loeffler 2012). Samanaikaisesti ilmenevän makrolidi- ja linkosamidiresistenssin lisäksi osalla MRSP-kannoista esiintyy indusoituvaa resistenssiä klindamysiinille. Indusoituvalla resistenssillä tarkoitetaan altistumisen jälkeen mikrobilääkkeelle ilmenevää resistenssiä (Perreten ym. 2010, Frank & Loeffler 2012). Herkkyysmääritystulosta tulkittaessa tulee kiinnittää erityistä huomiota klindamysiinikiekon ympärillä olevan estovyöhykkeen muodon muuttumiseen erytromysiinikiekon lähellä, mikä viittaa indusoituvaan klindamysiiniresistenssiin (Merja Rantala, suullinen tiedonanto). Mikäli klindamysiinille epäillään esiintyvän indusoituvaa resistenssiä, sitä ei tule käyttää MRSP-infektion hoidossa (Frank & Loeffler 2012).

Muita MRSP-infektioiden systeemihoidon herkkyysmäärittelyn perusteella tavallisesti soveltuvia mikrobilääkkeitä ovat vankomysiini ja linetsolidi. Vankomysiini ja linetsolidi ovat alun perin ihmisten vakavien ja henkeä uhkaavien MRSA-infektioiden hoitoon kehitettyjä mikrobilääkkeitä, jotka WHO on määritellyt ihmisille kriittisen tärkeiksi mikrobilääkkeiksi (Frank & Loeffler 2012). Suomessa vankomysiinin ja linetsolidin käyttö kaikille eläimille on kielletty lääkekieltoasetuksella (MMM 847/2008).

Paikallishoitoa käytetään ihotulehdusten hoidossa tavallisesti yhdessä systeemisen hoidon kanssa. MRSP-infektioissa, joissa systeemihoidon ei löydy sopivia lääkeaineita tai systeemisesti annosteltavia mikrobilääkkeitä käytettäessä potilailla on ilmennyt

vakavia haittavaikutuksia, paikallishoitoa voidaan joutua käyttämään ainoana hoitomuotona. Paikallishoidossa käytettäviä valmisteita ovat antiseptiset shampoot ja liuokset sekä paikallisesti annosteltavat mikrobilääkkeet (Bryan ym. 2012, Valentine ym. 2012). Ihotulehdusten hoitoon tarkoitettujen shampoiden ja liuosten sisältämiä antiseptejä ovat mm. klooriheksidiini, bentsoyyliperoksidi, etyyliilaktaatti, etikka- ja boorihappo sekä klooriksylenoli. MRSP-bakteerin herkkyys eri antisepteille vaihtelee (Valentine ym. 2012, Young ym. 2012). Klooriheksidiini on edellä mainituista yhdisteistä antibakteeriselta teholtaan paras antisepti. Bentsoyyliperoksidin ja etyyliilaktaatin antibakteerinen teho on huomattavasti klooriheksidiiniä heikompi, mutta pidempi kontaktiaika parantaa niiden antibakteerista tehoa. Etikka- ja boorihappoa tai klooriksylenolia sisältävillä shampoilla ei sen sijaan ole havaittu mainittavaa antibakteerista tehoa riippumatta kontaktiajan pituudesta (Young ym. 2012). Asiantuntijoiden nykyisin suosittama kontaktiajan pituus on 10 min (Frank & Loeffler 2012, Young ym. 2012).

Paikalliseen käyttöön soveltuvia mikrobilääkkeitä ovat fusidiinihappo, mupirosiini ja basitراسiini (Valentine ym. 2012). Paikallisesti annosteltavia mikrobilääkkeitä voidaan käyttää MRSP:n aiheuttamien ihoinfektioiden hoitoon ja MRSP:n häätämiseen sitä kantavista eläimistä (Loeffler ym. 2008). Edellä mainituista mikrobilääkkeistä mupirosiinin käyttö eläimille on kielletty lääkekieltoasetuksella (MMMa 847/2008).

MSSP- ja MRSP-bakteerien herkkyudessa antisepteille ja paikallisesti käytetyille mikrobilääkkeille ei ole toistaiseksi havaittu merkittäviä eroja (Frank & Loeffler 2012, Valentine ym. 2012, Young ym. 2012). Toisaalta on todennäköisesti vain ajan kysymys, kunnes MRSP-bakteerilla todetaan hankittua resistenssiä antiseptejä ja paikallisesti annosteltavia mikrobilääkkeitä vastaan (Frank & Loeffler 2012). Esimerkiksi fusidiinihapolle ja mupirosiinille esiintyvistä hankitusta resistenssistä *S. pseudintermedius* -bakteerilla on jo olemassa yksittäisiä raportteja (Loeffler ym. 2008, Valentine ym. 2012). Fusidiinihapolle ja mupirosiinille ilmenevän hankitun resistenssin kliinisen merkityksen arviointia kuitenkin hankaloittaa se, että herkkyysmääritykset eivät ota huomioon paikallisesti saavutettavia korkeita lääkeainepitoisuuksia (Loeffler ym. 2008).

Ihoinfektioita hoidettaessa potilaan tila arvioidaan uudelleen tavallisesti 3-4 viikon välein. Kontrollikäynneillä infektioiden kliinisen paranemisen seuranta perustuu kliiniseen yleistutkimukseen ja sytologiseen arvioon. Hoitoa ja kontrollikäyntejä jatketaan kunnes infektio arvioidaan kliinisesti parantuneeksi, ja sytologia todetaan normaaliksi (Frank & Loeffler 2012, Beco ym. 2013). Terveestä ihosta otetussa sytologisessa näytteessä ei yleensä esiinny ihotulehduksissa tavattavia granulosityyttejä tai solunsisäisiä bakteereita, ja mikäli näitä ei todeta ihotulehduksen voidaan katsoa parantuneen sytologisesti (Miller ym. 2013). Kliinisen ja sytologisen paranemisen jälkeen ilmenevissä uusintainfektioissa infektioiden hoidon tulee aina perustua aiheuttajan tunnistamiseen ja tämän herkkyysmäärittelyyn, sillä MRSP-infektion sairastaneet koirat voivat säilyä MRSP-positiivisina pitkiä ajanjaksoja (Laarhoven ym. 2011, Frank & Loeffler 2012, Windahl ym. 2012)

#### 1.4.4 MRSP-bakteerin häätäminen kantajaeläimistä

MRSP-bakteerin häätämisellä tarkoitetaan bakteerin eradikoimista kantajan iholta ja limakalvoilta. Häätämiselle ei ole määritelty selkeitä indikaatioita. Indikaatioiksi on ehdotettu toistuvien ihoinfektioiden ja leikkaushaavainfektioiden ehkäisyä eläimillä, jotka kantavat MRSP-bakteeria (Frank ym. 2009, Paul ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). Bakteerin häätäminen voi olla suositeltavaa myös haluttaessa estää MRSP-bakteerin leviäminen immuunipuutteisiin ihmisiin ja toisiin eläimiin (Loeffler ym. 2008).

Eläimille ei ole rekisteröity antiseptisiä tai mikrobilääkkeitä sisältäviä valmisteita, joiden käyttöindikaatioihin sisältyy MRSP-bakteerin häätäminen (Loeffler ym. 2008, van Duijkeren ym. 2011). Tällä hetkellä näyttö antiseptisten pesuaineiden tehosta bakteerin häätämisessä on puutteellinen. Iholla ja karvapeitteessä esiintyvien MRSP-bakteerien määrää on todennäköisesti mahdollista vähentää antiseptisillä pesuaineilla. Tästä huolimatta niiden teho on kyseenalainen, sillä antiseptisiä pesuaineita ei voida käyttää bakteerin häätämisessä eläimen limakalvoilta (van Duijkeren ym. 2011). Mikrobilääkkeistä fusidiinihapon tehoa on tutkittu *S. pseudintermedius* -bakteerin eliminaatiossa koirilta (Saijonmaa-Koulumies ym. 1998). Tutkimuksessa *S. pseudintermedius* -bakteerin esiintyvyyden iholla ja limakalvoilla osoitettiin vähentyneen merkittävästi käytettäessä fusidiinihappoa sisältäviä silmätippoja viikon

ajan paikallisesti silmissä sekä sierainten, anuksen ja vulvan limakalvoilla. Toisaalta jo kolmen viikon kuluttua hoidon päättymisestä bakteerin esiintyvyyden iholla todettiin palautuneen hoitoa edeltäneelle tasolle (Saijonmaa-Koulumies ym. 1998). MRSP-bakteerin on lisäksi todettu kehittävän melko herkästi resistenssiä tälle mikrobilääkkeelle (Dowling 2013).

MRSP-kolonisaation spontaanista häviämisestä ja paikallisesti käytettävien mikrobilääkkeiden pitkäaikaistehosta MRSP-bakteerin häätämisessä ei tiedetä riittävästi, jotta häätämistä voitaisiin pitää suositeltavana tai tarpeellisena (Frank & Loeffler 2012). Mikäli häätämiseen kuitenkin päätetään ryhtyä, prosessissa tulee huomioida kaikki kontaktieläimet ja eläinten kanssa kosketuksissa olevat ihmiset sekä huolehtia ympäristön huolellisesta puhdistamisesta ja desinfektiosta uusintatartuntojen estämiseksi (Loeffler ym. 2008, van Duijkeren ym. 2011, Frank & Loeffler 2012).

#### 1.4.5 MRSP:n riskitekijät

Koirilla sairaalahoito ja toistuvat käynnit eläinlääkärin vastaanotolla kasvattavat merkittävästi riskiä kolonisoitua ja infektoitua MRSP-bakteerilla (Nienhoff ym. 2011, Eckholm ym. 2013, Lehner ym. 2014). Ruotsalaisessa eläinsairaalassa tehdyssä tutkimuksessa MRSP-positiivisten koirien osuus lisääntyi merkittävästi kirurgista hoitoa vaatineiden koirien joukossa sairaalahoidon jälkeen, mutta valtaosassa tapauksia tarkempi tartuntalähde jäi tuntemattomaksi (Bergstrom ym. 2012). Erään lähteen mukaan MRSP-bakteeria tulisikin pitää ensisijaisesti eläinlääkinnän välityksellä leviävänä patogeenina (Lehner ym. 2014).

Aiemman mikrobilääkealtistuksen merkityksestä MRSP-löydöksen riskitekijänä esiintyy ristiriitaista tietoa (Nienhoff ym. 2011, Beck ym. 2012, Eckholm ym. 2013, Lehner ym. 2014). Eckholm ym. (2013) osoittivat, että ihotulehdusta sairastavilla koirilla edeltävän vuoden aikana saatu mikrobilääkehoito kasvattaa merkittävästi riskiä. Kasvaneen riskin ei kuitenkaan kyetty osoittaa johtuvan tiettyjen mikrobilääkkeiden käytöstä (Eckholm ym. 2013). Myös Nienhoff ym. (2011) totesivat mikrobilääkehoidon kasvattavan riskiä tulla todetuksi MRSP-positiiviseksi. Tutkimuksessa edeltävän 6 kuukauden aikana mikrobilääkkeitä saaneet koirat olivat 6 kertaa todennäköisemmin MRSP-positiivisia kuin koirat, joita ei oltu hoidettu mikrobilääkkein. Samassa

tutkimuksessa edeltävän 6 kuukauden aikana toteutettu mikrobilääkehoito todettiin aiemman sairaalahoidon lisäksi ainoaksi merkittäväksi riskitekijäksi MRSP-löydökselle (Nienhoff ym. 2011). Windahlin ym. (2012) tutkimuksessa mikrobilääkehoidon uskottiin jopa pitkittävän bakteerin kantajuusaikaa. Beck ym. (2012) ja Lehner ym. (2014) eivät sen sijaan kyenneet osoittamaan aiemman mikrobilääkehoidon altistavan MRSP-löydökselle.

Systeemisen glukokortikoidihoidon yhteys MRSP-tartuntaan on epäselvä (Nienhoff ym. 2011, Beck ym. 2012, Lehner ym. 2014). Nienhoff ym. (2011) uskoivat systeemisen glukokortikoidihoidon altistavan MRSP-tartunnalle. Toisaalta 87 % systeemisesti annosteltavia glukokortikoideja saaneista koirista oli ollut aiemmin sairaalahoidossa, minkä lisäksi koiria oli hoidettu mikrobilääkkein edellisen 6 kuukauden aikana (Nienhoff ym. 2011). Myös Lehner ym. (2014) totesivat systeemisen glukokortikoidihoidon altistavan MRSP-tartunnalle. MRSP-positiiviset koirat olivat kuitenkin todennäköisemmin myös käyneet toistuvasti eläinlääkärissä ja altistuneet paikallisesti käytetyille mikrobilääkkeille kuin MRSP-negatiivisiksi todetut koirat. Systeemisen glukokortikoidihoidon ei tästä johtuen katsottu suoraan altistavan MRSP-tartunnalle (Lehner ym. 2014). Edellisistä tutkimuksista poiketen Beck ym. (2012) totesivat glukokortikoidi- ja siklosporiinihoidon suojaavan MRSP-tartunnalta. Tutkituista ihotulehdusta sairastavista koirista 63 % sairasti samanaikaisesti atooppista ihotulehdusta, jossa glukokortikoidi- ja siklosporiinihoidon osoitettiin vähentävän ihon tulehdusta, toissijaisten infektioiden määrää sekä infektioiden hoidossa tarvittavien mikrobilääkkeiden käyttöä (Beck ym. 2012).

Edellä mainittujen riskitekijöiden lisäksi eläimen ikääntymisen on osoitettu olevan yhteydessä MRSP-löydökseen. Eläimen ikääntymisen uskotaan lisäävän eläinlääkärin hoitoa vaativien sairauksien ilmenemisen todennäköisyyttä ja ilmenneiden sairauksien hoidossa mahdollisesti tarvittavien lääkitysten käyttöä, jotka molemmat kohottavat riskiä tulla todetuksi MRSP-positiiviseksi (Nienhoff ym. 2011).

#### 1.4.6 MRSP-bakteeri kodeissa

MRSP-potilaiden ja kliinisesti terveiden MRSP-positiivisten eläinten kodeissa ympäristö on usein kontaminoitunut MRSP-bakteerilla. Kontaminaatio on tavallisesti



runsaampaa MRSP-potilaiden kodeissa kuin kliinisesti terveiden MRSP-positiivisten eläinten kodeissa (van Duijkeren ym. 2011). MRSP-bakteerilla yleisimmin kontaminoituneita alueita ovat eläinten ruokinta- ja nukkumapaikat (Laarhoven ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). Bakteerilla harvemmin kontaminoituneita paikkoja ovat ikkunalaudat, kaapit ja huonekalujen alla sijaitsevat lattiapinnat (van Duijkeren ym. 2011). Bakteerin epäillään leviävän kodeissa huoneilmassa esiintyvien pölyhiukkasten välityksellä. Bakteerin kulkeutuminen huonepölyn mukana selittäisi bakteerin löytymisen paikoista, joihin eläimillä ei ole pääsyä. Bakteerin uskotaan myös voivan säilyä pitkään ympäristössä, mikä korostaa ympäristön merkitystä eläinten ja ihmisten tartunnanlähteenä (Laarhoven ym. 2011).

MRSP-tartunta leviää kodeissa MRSP-potilaista ja terveistä MRSP-positiivisista eläimistä toisiin eläimiin suoran kosketuksen ja kontaminoituneen ympäristön välityksellä (Laarhoven ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). MRSP-potilaiden kanssa asuvat eläimet ovat useammin MRSP-positiivisia kuin eläimet, jotka asuvat kliinisesti terveeseen, MRSP-positiivisen eläimen kanssa. Terveiden MRSP-positiivisten koirien kanssa kosketuksissa olleilla eläimillä MRSP-positiivisuus on useimmiten lyhytaikaista. MRSP-potilaiden kanssa kosketuksissa olevilla eläimillä MRSP-positiivisuuden kesto sen sijaan riippuu MRSP-potilaan kliinisten oireiden kestosta (van Duijkeren ym. 2011). Tämä on osin selitettävissä sillä, että MRSP-potilaiden kodeissa bakteeria esiintyy runsaasti elinympäristön pinnoilla, mistä johtuen eläinten uskotaan altistuvan enemmän bakteerille. Runsaan altistuksen uskotaan myös kasvattavan MRSP-potilaan kanssa asuvien eläinten riskiä kolonisoitua MRSP-bakteerilla, sillä kontaktieläinten peräaukon limakalvolta kerättyjen näytteiden on usein todettu sisältävän bakteeria (van Duijkeren ym. 2011).

MRSP-bakteeria on todettu terveillä ihmisillä vain harvoin (Hanselman ym. 2009, van Duijkeren ym. 2011). MRSP-potilaiden omistajien on osoitettu olevan useammin MRSP-positiivisia kuin kliinisesti terveiden eläinten omistajat tai henkilöt, joilla ei ole säännöllistä kontaktia eläimiin (Guardabassi ym. 2004, Frank ym. 2009, Hanselman ym. 2009, Laarhoven ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). Tämä johtuu todennäköisesti omistajien tavallista runsaammasta altistumisesta bakteerille joko suoran koirakontaktin kautta tai kontaminoituneen ympäristön välityksellä (Laarhoven ym. 2011, van

Duijkeren ym. 2011). Ihmisillä MRSP-positiivisuuden on osoitettu olevan tavallisesti lyhytaikaista. Pitkäaikainen MRSP-positiivisuus on todennäköisimmin seurausta MRSP-potilaan kliinisten oireiden pitkittymistä seuraavasta runsaammasta altistumisesta bakteerille (Guardabassi ym. 2004, Hanselman ym. 2009, Laarhoven ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011).

#### 1.4.6 MRSP-bakteeri eläinklinikoilla

MRSP-bakteerin todennäköisiä tartuntalähteitä klinikka- ja sairaalaolosuhteissa ovat MRSP-bakteerilla kontaminoitunut ympäristö, välineet ja bakteerien vektoreina toimivat henkilökunnan jäsenet sekä bakteerilla kolonisoituneet ja infektoituneet potilaat (Bergstrom ym. 2012, Lehner ym. 2014).

Klinikka- ja sairaalaympäristön on osoitettu voivan kontaminoitua MRSP-bakteerilla (van Duijkeren ym. 2011, Bergstrom ym. 2012). Bergströmin ym. (2012) tutkimuksessa sairaalaympäristöstä otetuissa näytteissä MRSP-bakteeria todettiin sekä potilaiden että henkilökunnan kanssa kosketuksissa olleilta pinnoilta. Samassa tutkimuksessa MRSP-bakteerilla kontaminoituneen sairaalaympäristön uskottiin voivan toimia sairaalapotilaiden tartuntalähteenä (Bergstrom ym. 2012). Potilaiden tärkeimpinä tartuntalähteinä sairaalaympäristössä pidetään MRSP-bakteerilla kontaminoituneita lattiapintoja, häkkeitä ja välineitä (Portner & Johnson 2010).

MRSP-infektion sairastaneet MRSP-positiiviset eläimet voivat kantaa bakteeria pitkään yhtäjaksoisesti ja levittää bakteeria yhteisöissä sekä eläinklinikoilla (Laarhoven ym. 2011, Bergstrom ym. 2012). MRSP-negatiiviseksi todetut eläimet voivat myös muuttua MRSP-positiiviseksi useiden negatiivisten näytteiden ja kliinisten oireiden poistumisen jälkeen, mistä johtuen potilastyötä tekevien eläinlääkäreiden tulee huomioida potilaiden aiempi MRSP-löydös käsiteltäessä potilaita sekä tehtäessä potilaita koskevia hoitopäätöksiä (Laarhoven ym. 2011, Bergstrom ym. 2012).

Lemmikkieläimiä hoitavilla eläinlääkäreillä on kohonnut riski kantaa MRSP-bakteeria (Guardabassi ym. 2004, Morris ym. 2010, Paul ym. 2011). Eläinlääkäreistä dermatologien uskotaan altistuvan työssään muita eläinlääkäreitä useammin metisilliiniresistenteille stafylokokkibakteereille, sillä dermatologien potilaista

merkittävä osa sairastaa stafylokokkien aiheuttamia iho- ja pehmytkudosinfektioita. Tutkimusten mukaan 4-5 % dermatologeista bakteeria esiintyy sierainten limakalvoilla ja eristettyjen MRSP-kantojen on osoitettu vastaavan lemmikkieläimillä yleisimmin tavattavia kantoja (Morris ym. 2010, Paul ym. 2011).

## 2 *Staphylococcus aureus*

### 2.1 *S. aureus* -bakteerin esiintyvyys

*Staphylococcus aureus* on ihmisten ja useiden muiden eläinlajien iholla sekä limakalvoilla esiintyvä opportunistinen patogeeni. *S. aureus* -bakteeria kantavilla ihmisillä sierainontelon limakalvot ovat yleisimmin kolonisoituneet bakteerilla ja lasten on todettu olevan useammin *S. aureus* -bakteerin kantajia kuin aikuisten (Wertheim ym. 2005). Bakteeri on yleinen, kliinisesti merkittävien infektioiden aiheuttaja ihmisillä (de la Maza ym. 2013). Bakteerin aiheuttamat infektiot jaetaan terveydenhoidon ulkopuolella hankittuihin ja terveydenhoidossa hankittuihin infektiioihin (Wertheim ym. 2005). *S. aureus* aiheuttaa myös ruokamyrkytyksiä tuottamiensa toksiinien välityksellä (Korkeala 2007).

*S. aureus* -bakteerin yleisyydestä terveillä koirilla on saatavilla vain rajallisesti tietoa (Walther ym. 2012). Tutkimusten mukaan 2-8 % terveistä koirista bakteeria esiintyy sierainten limakalvoilla (Fazakerley ym. 2009, Paul ym. 2012, Walther ym. 2012). Terveiden ja atooppista ihotulehdusta sairastavien koirien välillä ei ole havaittu eroja. Todennäköisyys tunnistaa bakteeria kantavat koirat kasvaa otettaessa näyte sekä sieraimista että peräaukon alueelta (Fazakerley ym. 2009). Koirilla yleisimpiä *S. aureus* -infektioita ovat iho- ja muut pehmytkudosinfektiot (Faires ym. 2010).

### 2.3 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus*

MRSA on yksi tärkeimmistä sairaalainfektioiden aiheuttajista ihmisillä. Sairaalainfektioiden lisäksi MRSA-bakteerin merkitys terveydenhoidon ulkopuolella hankittujen iho- ja pehmytkudosinfektioiden aiheuttajana on kasvanut. MRSA-bakteerin aiheuttamia jopa kuolemaan johtavia infektiota on viime vuosina todettu aiemmin

terveillä henkilöillä, joilla ei ole ollut yhteyttä terveydenhoitoon (Leonard & Markey 2008, Weese 2010, Weese & van Duijkeren 2010).

MRSA-kannat ovat resistenttejä kaikille beetalaktaamiantibiooteille.

Beetalaktaamiresistenssin mekanismi on sama kuin MRSP-bakteerilla. MRSA-kannoilla esiintyy beetalaktaamiresistenssin lisäksi usein resistenssiä myös muille mikrobilääkkeille (Leonard & Markey 2008, Perreten ym. 2010).

### 2.3.1 MRSA-bakteeri koiralla

MRSA-bakteeria esiintyy ihmisten lisäksi useilla muilla eläinlajeilla. Eläinlajeja, joiden on todettu voivan kolonisoitua ja infektoitua MRSA-bakteerilla, ovat koira, kissa, kani, hevonen, nauta, sika, siipikarja ja eksoottiset eläimet (Weese 2010). Tutkimusten mukaan 0-4 % terveistä koirista on MRSA-positiivisia. Toisaalta tietyissä koirapopulaatioissa, esimerkiksi löytökoirilla ja sairaalahoidossa olleilla koirilla, MRSA-bakteeria on todettu esiintyvän edellä mainittua enemmän (Weese 2010, Weese & van Duijkeren 2010). Koirilla MRSA-positiivisuus on tilapäistä, sillä valtaosa koirista pääsee spontaanisti eroon bakteerista muutamassa viikossa (Weese 2010). Koirilla MRSA-bakteerin ei tiedetä kolonisoivan tiettyjä kehon paikkoja, mutta näytteenoton herkkyyden parantamiseksi näytteet suositellaan otettaviksi sekä sieraimista että peräsuolen tai peräaukon alueen limakalvoilta (Fazakerley ym. 2009, Weese & van Duijkeren 2010).

Lemmikkieläinten altistuminen MRSA-bakteerille on lisääntynyt ihmisten MRSA-kantajuuden yleistyessä. Tämä kasvattaa eläinten riskiä kolonisoitua ja infektoitua bakteerilla (Weese 2010). Muita MRSA-infektioiden riskitekijöitä koirilla ovat toistuvat mikrobilääkekuurit, beetalaktaami- ja fluorokinoloniantibioottien käyttö, sairaalahoido, kirurgiset implantit ja kontakti terveydenhoidon kanssa tekemisissä olleisiin ihmisiin (Faires ym. 2010, Soares Magalhaes ym. 2010, Weese 2010).

Loefflerin ym. (2011) tutkimuksessa aiemman mikrobilääkehoidon ja sairaalassa vietetyn ajan ei edellä mainitusta poiketen todettu kasvattavan MRSA-löydöksen tai -infektion todennäköisyyttä. Muiden koagulaasipositiivisten stafylokokkibakteerien esiintyvyyden sen sijaan todettiin pienentävän riskiä koirilla. Samassa tutkimuksessa

MRSA-löydökseen yhdistettävien riskitekijöiden puuttumisen uskottiin viittaavan siihen, että seuraläimet toimivat pääasiassa MRSA-bakteerin kontaminoituneina vektoreina eivätkä aitoina reservuaareina (Loeffler ym. 2011).

Valtaosalla terveistä koirista MRSA-kantajuus ei johda infekioon. Altistavien tekijöiden läsnä ollessa seurauksena voi kuitenkin olla infektoituminen bakteerilla. Yleisimpiä MRSA-infektioita ovat iho- ja pehmytkudosinfektiot, joista koirilla eniten raportoituja ovat leikkaushaava- ja muut haavainfektiot (Faires ym. 2010, Weese 2010, Weese & van Duijkeren 2010). MRSA-infektiot eivät tutkimusten mukaan eroa tyypiltään, vakavuudeltaan tai paranemisennusteeltaan MSSA-infektioista. Yhtäläinen paranemisennuste on todennäköisesti seurausta bakteerien aiheuttamien infektioiden tyypistä. Bakteerin tavallisimmin aiheuttamista infektoista ihotulehdus ja ulkokorvantulehdus ovat usein pinnallisia, mistä johtuen kuolleisuus näissä infektoissa on alhainen. Tutkimustuloksia edellä mainittuja infektoita invasiivisemmista infektoista, joissa kuolleisuus on luultavasti korkeampi, on vain rajallisesti saatavilla (Faires ym. 2010).

### 2.3.2 MRSA-bakteerin siirtyminen eläinlajien välillä

MRSA-bakteerin on todettu voivan siirtyä eläinlajien välillä. Useissa tutkimuksissa lemmikkieläimistä eristettyjen MRSA-kantojen on osoitettu vastaavan ihmisiltä yleisimmin eristettyjä MRSA-kantoja ja osassa tutkimuksia MRSA-positiivisia lemmikkieläimiä on pidetty ihmisillä esiintyvien infektioiden lähteenä. Näyttö lemmikkieläinten toimimisesta ihmisten MRSA-infektioiden lähteenä on kyseenalainen, sillä saman MRSA-kannan löytyminen ihmisiltä ja lemmikkieläimiltä ei kerro tartunnan lähteestä eikä poissulje mahdollista yhteistä tartuntalähdettä (Weese 2010). Kaiken kaikkiaan todellisesta tartuntariskistä sekä eläinten ja ihmisten toimimisesta toistensa tartuntalähteinä ei tiedetä paljoakaan (Leonard & Markey 2008, Weese 2010). Seuraavissa kappaleissa on kuvattu mitä MRSA-bakteerin siirtymisestä eläinlajien välillä tiedetään tällä hetkellä.

Lemmikinomistajat eivät vaikuta olevan kohonneessa riskissä kolonisoitua tai infektoitua MRSA-bakteerilla, mutta asiaa on tutkittu vain vähän (Weese 2010). Tosin eräässä tutkimuksessa jopa 18 % MRSA-eläinpotilaan kanssa asuvista ihmisistä

todettiin MRSA-positiiviseksi (Faires ym. 2009). Edellä mainittua MRSA-löydösten osuutta voidaan pitää melko korkeana, sillä yhteisöissä tyypillisesti alle 3 % ihmisistä on MRSA-positiivisia (Faires ym. 2009, Weese 2010). Vaikka lemmikinomistajilla MRSA-löydösten osuus ei normaalioloissa eroa valtaväestöstä (Weese 2010), voidaan olettaa, että MRSA-infektiota sairastavien lemmikeiden omistajilla on kohonnut riski kantaa bakteeria (Faires ym. 2009). MRSA-löydöksen kliinistä merkitystä yksittäisellä lemmikinomistajalla ei ole tutkittu (Weese 2010).

Eläinlääkäreiden ja muiden eläinten kanssa työskentelevien uskotaan altistuvan työssään valtaväestöä enemmän MRSA-bakteerille. Valtaosassa tutkimuksia eläinlääkäreiden ja muiden eläinten kanssa työskentelevien on todettu olevan useammin MRSA-positiivisia kuin valtaväestön, mikä viittaa työperäiseen lisääntyneeseen altistukseen (Weese 2010, Weese & van Duijkeren 2010). Eläinlääkäreistä ja muista eläinten kanssa työskentelevistä eristetyt MRSA-kannat tukevat teoriaa työperäisestä altistuksesta ainakin hevos- ja tuotantoeläinlääkäreillä. Pieneläinlääkäreillä MRSA-tartunnanlähde on epäselvempi, sillä pieneläimistä eristetyt MRSA-kannat edustavat tavallisimmin ihmisten epideemisiä kantoja. MRSA-löydöksen riskitekijöitä eläinlääkäreillä ja muilla eläinten kanssa työskentelevillä ei tunneta kovin tarkasti. Hevoseläinlääkäreillä rutiininomaisen käsihygienian todettiin suojaavan MRSA:lta, kun taas potilaan MRSA-positiivisuuden ja -infektion todettiin altistavan MRSA:lle. Pieneläinlääkäreiden MRSA-löydöksen riskitekijöiden selvittäminen sen sijaan vaatii lisätutkimusta (Weese 2010).

Lemmikkieläinten mahdollinen rooli ihmisten MRSA-tartuntojen lähteenä herättää kansanterveydellistä huolta ja voi vaikuttaa lemmikkieläinten sekä ihmisten nykyiseen läheiseen suhteeseen (Weese 2010). Ääritapauksissa MRSA-infektioita sairastavien lemmikkieläimiä on suositeltu lopetettaviksi tai siirrettäviksi pois kodeista, ilman että lemmikkien on osoitettu toimineen ihmisten MRSA-tartunnan lähteenä tai edes kantaneen bakteeria. Vaikka lemmikkieläinten roolia MRSA-tartuntojen lähteenä ei tule vähätellä, suositeltujen torjuntatoimien tulee olla näyttöön perustuvia. Tällä hetkellä tarvittava näyttö lemmikeiden roolista MRSA-tartuntojen lähteenä ja tieto MRSA-tartuntojen riskitekijöistä on yhä puutteellista, mistä johtuen edellä mainittuja toimia ei voida pitää perusteltuina (Faires ym. 2009).

### 3 MRSP- ja MRSA-tartuntojen torjunta

#### 3.1 Tartuntojen torjunta eläinklinikoilla

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira on julkaissut vuonna 2010 suosituksen MRSA-tartuntojen torjunnasta ja ehkäisemisestä eläimillä (Elintarviketurvallisuusvirasto 2010). MRSA-tartuntojen torjunnan ja ennaltaehkäisemisen lisäksi tätä suositusta voidaan soveltuvin osin hyödyntää myös MRSP-tartuntojen torjunta- ja ennaltaehkäiseviä toimia suunniteltaessa sekä toteutettaessa. Edellä mainitun suosituksen lisäksi Suomen eläinlääkärilehdessä vuonna 2011 julkaistussa artikkelissa on käsitelty erikseen MRSP-tartuntojen torjuntaa eläinklinikoilla (Rantala 2011). Ellei toisin mainita alla kuvatut MRSP- ja MRSA-tartuntojen torjunta- sekä ennaltaehkäisevät toimet perustuvat yllä mainittuihin lähteisiin.

##### 3.1.1 Yleiset varotoimet

Tartuntojen torjumiseksi ja ehkäisemiseksi eläimiä käsiteltäessä tulee noudattaa normaaleja varotoimia, joihin kuuluvat mm. hyvän käsihygienian ja aseptisten työtapojen noudattaminen, ympäristön ja välineiden puhtaana pitäminen sekä asianmukaisten työvaatteiden ja muiden suojavarusteiden käyttäminen. Normaaleja varotoimia noudattamalla estetään mikrobien siirtyminen potilaiden ja potilaita hoitavien sekä käsittelevien henkilökunnan jäsenten välillä, ja huolehditaan mahdollisten tartuntareittien tehokkaasta katkaisusta. Varsinaisiin torjuntatoimiin ryhdytään tavallisesti vasta perustellussa tartuntaepäilyssä tai todetussa tartunnassa. Varsinaisia torjuntatoimia ovat mm. kosketuseristys, kohortointi, eristys, potilas- tai kohorttikohtaisten hoito- ja tutkimusvälineiden käyttö sekä ympäristön puhdistus ja saneeraus.

##### 3.1.2 Torjuntatoimet epäilyssä tai todetussa tartuntatapauksessa

Epäiltäessä MRSP- tai MRSA-altistusta, tai -tartuntaa tai mikäli potilaalla on todettu tartunta, potilaan hoidon tulisi tapahtua kosketuserityksessä. Myös MRSP- tai MRSA-

bakteerin kantajiksi todettujen tai epäiltyjen potilaiden hoidossa noudatetaan kosketuseristystä. Kosketuseristyksellä tarkoitetaan potilaan käsittelyä erillään muista potilaista. Kosketuseristyksessä olevaa potilasta käsiteltäessä käytetään aina suojakäsineitä ja potilaskohtaisia tai kertakäyttöisiä suojarusteita. Lisäksi käsihygieniaan kiinnitetään erityistä huomiota. Klinikalla ja sairaaloissa potilaan kosketuseristys on mahdollista toteuttaa usealla eri tavalla. MRSP- tai MRSA-positiiviseksi todetun potilaan myöhemmässä hoidossa tulee huomioda, että kerran MRSP- tai MRSA-positiiviseksi todetun potilaan kosketuseristystoimenpiteitä eläinklinikalla ei pureta, vaan myös potilaan myöhempi hoito tapahtuu kosketuseristyksessä.

Kohortointia hyödynnetään silloin kun tartunnan saaneita tai bakteerille altistuneita on useita. Kohortoinnilla tarkoitetaan eläinten ryhmittelyä osastoihin todetun tai oletetun tartunta- ja altistusstatuksen mukaan. Eri kohorttiryhmien välillä ja tarvittaessa ryhmien sisällä noudatetaan hoito- ja käsittelyjärjestystä. Kohortissa käytetään asianmukaisia suojavaatteita ja riittävästä käsihygieniasta huolehditaan. Lisäksi potilailla tulee olla omat ruoka- ja juoma-astiat sekä muut hoitovälineet.

Potilaiden lisäksi potilaiden hoitoon osallistuvat henkilökunnan jäsenet ja hoidossa käytetyt välineet tulisi kohortoida. Hoitoon osallistuvien ihmisten ja välineiden kohortoinnilla rajoitetaan potilaiden ja bakteerilla kontaminoituneiden tilojen kanssa kosketuksissa olevien ihmisten ja välineiden määrää, jolla pyritään ennaltaehkäisemään tartunnan leviäminen muihin tiloihin ja potilaisiin. Mikäli eläinten hoitoon osallistuvien ihmisten kohortointi ei ole mahdollista, eläinten hoito- ja käsittelyjärjestys tulee suunnitella siten, että tartunnan leviäminen kyetään ehkäisemään. Hoito- ja käsittelyjärjestyksen suunnittelua varten potilaat kohortoidaan.

MRSP- ja MRSA-tartunnoissa ympäristön puhdistus ja saneeraus tulee suunnitella ja toteuttaa huolellisesti. Saneeraus voidaan toteuttaa joko kerralla tai osastoittain. Siivouksessa huomiodaan aseptinen työjärjestys, millä tarkoitetaan sitä, että siivouksen tulee tapahtua ylhäältä alas ja puhtaasta likaiseen. Puhdistuksessa ja desinfektioissa kiinnitetään erityistä huomiota potilaan kanssa kosketuksissa olleisiin kosketuspintoihin ja välineisiin. Tiloja puhdistettaessa ja saneerattaessa tulee lisäksi aina käyttää riittävää ja asianmukaista suojarustusta.



### 3.1.4 Torjuntatoimien kohdistaminen ja niiden riittävyyden arviointi

Jotta torjuntatoimet voidaan kohdistaa oikein ja tartunnan leviäminen pysäyttää, tiedon eläimen MRSP- ja MRSA-positiivisuudesta tulee olla helposti saatavilla.

Eläinklinikoilla on kiinnitettävä erityistä huomiota siihen, että hoitohenkilökunnan on helppoa tunnistaa MRSP- ja MRSA-positiiviset potilaat potilasohjelman avulla. Lisäksi MRSP- tai MRSA-positiivisen potilaan omistajan velvollisuuksiin kuuluu kertoa tartunnasta hoitohenkilökunnalle tapauksissa, joissa hoitohenkilökunta ei ole entuudestaan tietoinen potilaan MRSP- tai MRSA-positiivisuudesta.

Torjuntatoimien riittävyyttä arvioitaessa tulee selvittää, kuinka laajalle tartunnat ovat levinneet. Tartuntojen tunnistamiseksi altistuneista otetaan seulontanäytteet bakteeriviljelyä varten. Altistuneiksi katsotaan saman eläinlääkärin hoidossa olleet potilaat, eläimet, joita on hoidettu samoissa tiloissa kuin MRSP- tai MRSA-potilasta, tai potilas, joka on viettänyt vähintään 24 h yhtä aikaa sairaalassa MRSP- tai MRSA-positiivisen eläimen kanssa. Seulonnalla pyritään tunnistamaan tartunnan lähde ja mahdolliset kantajat, jotta torjuntatoimet voidaan mitoittaa oikein. Torjuntatoimien onnistumisen seuraamiseksi potilaista otetaan seurantanäytteitä.

### 3.1.5 Eläinlääkäreiden ja eläintenhoitajien MRSA-seulonta

MRSA-seulontanäytteiden ottaminen eläinlääkäreistä ja eläintenhoitajista on kiistelty aihe, jossa tulee huomioida ehdoton luottamuksellisuus ja yksittäisen työntekijän leimaamisen välttäminen (Leonard & Markey 2008). MRSA-näytteiden otto henkilökunnan jäseniltä ei yleisesti ottaen ole tarpeen yksittäisissä potilaiden MRSA-löydöksissä. Näytteenottoa tulee kuitenkin harkita mm. epidemiatilanteissa, joissa epidemiaa ei saada kuriin torjuntatoimista huolimatta, ja tapauksissa, joissa uusien tartuntojen epäillään olevan peräisin henkilökunnasta. Henkilökunnan seulomiseksi tulee olla yhteydessä vastuullisen sairaanhoitopiirin tartuntataudeista vastaavaan lääkäriin tai työterveyshuoltoon.

### 3.2 Tartuntojen torjunta kodeissa

MRSP-potilaiden kodeissa ympäristön kontaminoituminen on tavallisesti runsasta ja on epätodennäköistä, että ympäristön kontaminaatiota kyettäisiin poistamaan niin kauan kuin MRSP-potilaalla on infektiosta aiheutuvia kliinisiä oireita (van Duijkeren ym. 2011). Huolellisen siivouksen ja desinfektion on kuitenkin todettu alentavan elävien bakteerien määrää ympäristössä ja vähentävän eläinten ympäristöperäistä altistumista bakteerille (van Duijkeren ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). Muina mahdollisina torjuntatoimina MRSP-positiivinen eläin voidaan väliaikaisesti sijoittaa kodin ulkopuolelle ympäristöön, jossa tartunnan leviämisen riski muihin eläimiin on vähäinen, tai vaihtoehtoisesti kotona voidaan rajata MRSP-potilaan oleskelutilaksi huone tai huoneet mikäli mahdollista. MRSP-potilaan säännöllisellä pesemisellä on myös mahdollista vähentää MRSP-bakteerien määrää potilaan iholla ja karvapeitteessä (van Duijkeren ym. 2011).

Kosketuspintoja lukuun ottamatta ympäristöä ei pidetä merkittävänä tartunnanlähteenä ihmisten MRSA-tartunnoissa. Sen sijaan eläimestä eläimeen tapahtuvien tartuntojen torjunnassa ympäristön puhdistamisella on todennäköisesti enemmän merkitystä kuin ihmisestä ihmiseen tapahtuvien tartuntojen torjunnassa (Leonard & Markey 2008). Eläimistä ihmisiin tapahtuvien tartuntojen ehkäisyssä tärkeimpänä keinona pidetään rutiininomaista käsihygieniaa. Hyvä käsihygienia on erityisen tärkeää ihmisillä, joilla on jokin immunitettia heikentävä sairaus tai lääkitys (Leonard & Markey 2008, Hanselman ym. 2009).

## 4 Diagnostiikka

### 4.1 Fenotyyppiin perustuva lajintunnistus

*Staphylococcaceae*-heimoon kuuluvat *Staphylococcus*-suvun lajit ovat liikkumattomia, itiöitä muodostamattomia, grampositiivisia kokkibakteereita, jotka esiintyvät mikroskoopilla katsottuna rykelmissä. Valtaosa lajeista on fakultatiivisia anaerobeja. *Staphylococcus*-suvussa esiintyy sekä koagulaasiposiitivisia että -negatiivisia lajeja, joista koagulaasiposiitiviset ovat tavallisesti patogeenisempia. *Staphylococcus*-suvun

lajit ovat erotettavissa *Streptococcus*-suvun lajeista katalaasitestin avulla:  
*Staphylococcus*-suvun lajit ovat katalaasipositiivisia toisin kuin *Streptococcus*-suvun lajit. *Staphylococcus*-suvun lajit eivät tuota oksidaasientsyymejä (Todar 2012)

*Staphylococcus*-sukuun kuuluvien lajien ilmiäsuun perustuvassa lajintunnistuksessa hyödynnetään lajille tyypillistä pesäkemorfologiaa, koagulaasin tuottoa, novobiosiini- ja polymyksiini B -herkkyyttä sekä biokemiallisia reaktioita. *S. pseudintermedius* on tavallisesti erotettavissa *S. aureus* -lajista ja koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista lajille tyypillisen pesäkemorfologian avulla. Veriagarilla *S. pseudintermedius* -pesäkkeet ovat pigmentoitumattomia, keskikokoisia ja koholla alustastaan. Lampaan ja naudan veriagarilla *S. pseudintermedius* voi tuottaa joko suuren himmeän  $\beta$ - tai pienen kirkkaan  $\alpha$ -hemolyysin. Tavallisesti nämä esiintyvät kuitenkin samanaikaisesti, jolloin puhutaan kaksoishemolyysistä (Bannoehr & Guardabassi 2012). *S. aureus* -pesäkkeet ovat tyypillisesti pigmentoituneita, sileitä, hemolyyttisiä ja hieman koholla alustastaan. Pigmentti vaihtelee väritykseltään vaaleankeltaisesta oranssiin. Koagulaasinegatiivisten stafylokokkien muodostamat pesäkkeet ovat puolestaan tavallisesti pigmentoitumattomia, sileitä eivätkä ole yleensä hemolyyttisiä veriagarilla (Bannerman & Peacock 2007).

Koagulaasinegatiivisten ja -positiivisten lajien erottamiseksi toisistaan käytetään solunulkoisen koagulaasin havaitsevaa putkikoagulaasitestiä (Bannerman & Peacock 2007, Todar 2012). Stafylokokkilajien tunnistuksessa hyödynnettäviä mikrobilääkkeitä ovat polymyksiini B ja novobiosiini. Polymyksiini B -herkkyyttä hyödynnetään koagulaasipositiivisten *S. aureus* - ja *S. intermedius* -ryhmän erottamiseksi toisistaan. *S. intermedius* -ryhmään kuuluvat lajit on herkkiä polymyksiini B:lle (300 IU polymyksiinikiekko, estovyöhyke  $\geq 10$  mm), kun taas *S. aureus* on resistentti. Novobiosiini herkkyuden määrittäminen soveltuu lähinnä koagulaasinegatiivisten stafylokokkien lajintunnistukseen. Edellä mainittujen testien lisäksi tunnistamisessa voidaan käyttää bakteerien biokemiallisia ominaisuuksia mittaavia kaupallisia testisarjoja, joita ovat mm. API Staph (bioMérieux) ja ID32 Staph (bioMérieux). Kaupallisten testisarjojen avulla on mahdollista tunnistaa suhteellisen luotettavasti kliinisesti merkittävimmät stafylokokkilajit (Bannerman & Peacock 2007).

## 4.2 Genotyyppiin perustuva lajintunnistus

Koagulaasipositiivisten stafylokokkien lajintunnistukseen on kehitetty useita genotyyppiin perustuvia menetelmiä. Valtaosassa lajintunnistuksessa käytettävistä genotyyppiin perustuvista menetelmistä hyödynnetään polymeerasiketjureaktiota (PCR) (Bannoehr ym. 2009, Blaiotta ym. 2010, Sasaki ym. 2010, Bannoehr & Guardabassi 2012). Eräs tällainen menetelmä on lajityypin mukaisen *nuc*-geenin tunnistus. Genotyyppiin perustuvia lajintunnistusmenetelmiä käytetään kuitenkin vain harvoin rutiinidiagnostiikassa. Nopeaan tunnistukseen on kehitetty myös automatisoituja kaupallisia analysointilaitteita. Näissä lajintunnistus perustuu metabolisten muutosten havaitsemiseen mm. fluoresenssin avulla ja tulos on saatavilla tunneissa. Maldi-Tof-massaspektrometrimenetelmä (Matrix-assisted laser desorption/ionization - Time-of-Flight) on myös yleistymässä lajintunnistuksessa. Analysointilaitteiden käyttöä eläinlääkinnälliseen tarkoitukseen rajoittaa ennen kaikkea laitteiden korkea hinta ja validoinnin puute eläinlääketieteessä merkittävien patogeenien lajintunnistuksessa (Bannoehr & Guardabassi 2012).

## 4.3 Metisiliiniresistenttien kantojen tunnistaminen

Metisiliiniresistenttien *S. pseudintermedius* - ja *S. aureus* -kantojen erottamiseksi metisiliiniherkistä kannoista voidaan käyttää sekä feno- että genotyyppiin perustuvia menetelmiä (Murakami ym. 1991). Valtaosassa fenotyyppiin perustuvissa menetelmissä hyödynnetään bakteerikantojen *in vitro* -herkkyyttä eri mikrobilääkkeille (Baddour ym. 2007). Metisiliiniresistenssin osoittamiseen voidaan käyttää myös *mecA*-geenin koodaaman muuntuneen penisilliiniä sitovan proteiinin 2a (PBP2a) havaitsemiseen tarkoitettua lateksiagglutinaatiotestiä, mutta tämän menetelmän herkkyys ja tarkkuus on todettu puutteelliseksi useissa tutkimuksissa (Alipour ym. 2014). Genotyyppiin perustuvista menetelmistä *mecA*-geenin tunnistaminen PCR-menetelmällä on käytetyin metisiliiniresistenssin osoittamiseen käytetty menetelmä (Baddour ym. 2007).

*In vitro* -herkkyteen perustuvassa tunnistamisessa testataan metisiliiniherkkyuden sijasta herkkyyttä oksasilliinille, jota pidetään herkimpänä seulontatestinä havaita *mecA*-positiiviset *S. pseudintermedius* -kannat. Sovellettaessa CLSI:n M31-S1-standardissa julkaistuja raja-arvoja menetelmän herkkyuden on todettu olevan 99-100 %

(National Committee of Clinical Laboratory Standards 2004, Bemis ym. , Schissler ym. 2009). Muista kiekkoherkkyysmenetelmistä kefoksitiiniherkkyysmenetelmän käyttökelpoisuudesta MRSP-kantojen tunnistamisessa esiintyy ristiriitaista tietoa (Schissler ym. 2009, Bemis ym.). MRSA-kantojen tunnistamiseen käytetään tavallisesti kefoksitiiniekkoherkkyysmenetelmää (Alipour ym. 2014).

#### 4.4 MRSP- ja MRSA-kantojen tyypitysmenetelmät

Tärkeimpiä MRSP- ja MRSA-kantojen epidemiologisessa tyypityksessä käytettäviä molekyylibiologisia menetelmiä ovat restriktioentsyymien avulla tehtävään DNA:n pilkkomiseen perustuva pulssikenttägeelielektroforeesi (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE), useaan geenilokukseen perustuva sekvenssityypin määrittäminen (multilocus sequence typing, MLST) sekä *SCCmec*- ja *spa*-tyypitys (Leonard & Markey 2008, Bannoehr & Guardabassi 2012). Molekyylibiologisten tyypitystekniikoiden lisäksi metisilliiniresistenttien kantojen tyypittämisessä voidaan hyödyntää fenotyyppiin perustuvia tyypitystekniikoita, joita ovat mm. kantojen mikrobilääkeherkkyysprofiili, herkkyys erilaisille bakteriofageille ja toksiinien tuoton määrittäminen (Leonard & Markey 2008).

##### 4.4.1 Pulssikenttägeelielektroforeesi

Pulssikenttägeelielektroforeesityypitystekniikassa bakteerin DNA pilkotaan restriktioentsyymien avulla. Muodostuneiden fragmenttien erotteluun käytetään pulssikenttägeelielektroforeesia, jolloin muodostuu kullekin kannalle ominainen sormenjälkikuvio (Leonard & Markey 2008). PFGE-tyypitystekniikkaa pidetään yhtenä erottelukykyisimmistä tyypitysmenetelmistä ja se on erityisen käyttökelpoinen paikallisten epidemioiden selvitystyössä sekä seurannassa (van Duijkeren ym. 2008, Bannoehr & Guardabassi 2012). Menetelmällä saatujen tulosten vertailukelpoisuus eri tutkimusten ja laboratorioden välillä on kuitenkin huono standardoidun protokollan puuttumisen vuoksi (Murchan ym. 2003, Leonard & Markey 2008, Bannoehr & Guardabassi 2012).

#### 4.4.2 MLST-menetelmä

Sekvenssityypin määrittämisessä (multilocus sequence typing, MLST) tyypitettävät geenit koostuvat joukosta perusaineenvaihdunnasta vastaavia geenejä, joiden evoluutioon ei liity merkittävää rekombinaatiota (Bannoehr ym. 2007, Black ym. 2009).

Sekvensoitujen geenien geenisekvenssiä verrataan geenien tunnettujen alleelien geenisekvensseihin. Sekvenssityyppi määräytyy sekvensoitujen geenien eri alleelien yhdistelmän perusteella. Solymanin ym. (2013) kehittämässä MLST7-menetelmässä sekvenssityypin määrittämisessä hyödynnetään seitsemää geenilokusta.

Sekvenssityypeistä muodostettu tietokanta on julkinen ja saatavilla verkossa (<http://pubmlst.org/spseudintermedius/>). MLST-menetelmää voidaan käyttää mm. metisilliiniresistenttien ja -herkkien kantojen keskinäisten sukulaisuussuhteiden tutkimuksessa, metisilliiniresistenssin leviämisen seurannassa sekä kansainvälisesti merkittävien epidemiologisten kloonien tunnistamisessa (Leonard & Markey 2008, Bannoehr & Guardabassi 2012, Solyman ym. 2013). MRSA-bakteerikantojen tyypitys MLST-menetelmällä perustuu *S. pseudintermedius* -lajin tavoin seitsemään geenilokukseen. Tietokanta geenien tunnettujen alleelien geenisekvensseistä on saatavilla verkossa osoitteessa <http://www.mlst.net> (Leonard & Markey 2008).

#### 4.4.3 SCC<sub>mec</sub>-tyypitys

SCC<sub>mec</sub>-tyypitys perustuu *mecA*-geenin sisältävän stafylokokkien kasettikromosomin tiettyjen alueiden PCR-pohjaiseen kartoittamiseen. MRSP-kantojen SCC<sub>mec</sub>-tyypityksessä käytetään alun perin MRSA-kantojen tyypitykseen suunniteltuja multiplex-PCR-menetelmiä (Bannoehr & Guardabassi 2012).

SCC<sub>mec</sub>-tyyppi määräytyy kasettikromosomin sisältämän *mec*-geenin luokan ja rekombinaasi-geenin (*ccr*) tyypin perusteella. SCC<sub>mec</sub>-tyypit jaetaan edelleen alatyyppeihin geenien välisillä, geenejä koodaamattomilla J-alueilla esiintyvien geenisekvenssin erojen mukaan (Leonard & Markey 2008, Bannoehr & Guardabassi 2012).

Tähän mennessä stafylokokkeilla on tunnistettu yhteensä 11 erilaista SCC<sub>mec</sub>-tyyppiä (Bannoehr & Guardabassi 2012). Osan MRSP- ja MRSA-kantojen kantamista

kasettikromosomityypeistä on osoitettu olevan geneettisesti läheistä sukua toisilleen sekä muiden stafylokokkilajien kantamille kasettikromosomityypeille (Perreten ym. 2010, Bannoehr & Guardabassi 2012). Eri stafylokokkilajeilla tavattavien kasettikromosomien geneettistä samankaltaisuutta pidetään osoituksena stafylokokkilajien välillä tapahtuvasta mikrobilääkeresistenssiä koodaavien geenien vaihdosta (Black ym. 2009).

#### 4.4.4 *spa*-tyypitys

*spa*-tyypitys perustuu *spa*-geenilokuksessa sijaitsevan alueen X geenisekvenssissä esiintyvien toistojaksojen lukumäärän vaihteluun (Ruscher ym. 2010, Bannoehr & Guardabassi 2012). *S. aureus* -epidemioiden selvitystyössä paljon käytetty *spa*-tyypitys on vähitellen korvannut epidemioiden selvitystyössä paljon käytetyn PFGE-menetelmän, sillä *spa*-tyypitys on toistettavampi ja vähemmän aikaa vievä menetelmä verrattuna PFGE-menetelmään. Erottelukyvyltään *spa*-tyypitys vastaa PFGE-menetelmää ja sitä pidetään erottelukyvyltään parempana kuin MLST-menetelmää. Lisäksi *spa*-tyypityksellä saadut tulokset ovat keskenään vertailukelpoisia toisin kuin PFGE-menetelmällä saadut tulokset (Bannoehr & Guardabassi 2012).

*S. pseudintermedius* -kantojen tyypittämistä varten on suunniteltu oma lajispesifinen *spa*-tyypitysmenetelmä. Menetelmä soveltuu kuitenkin vain MRSP-kantojen tyypittämiseen, sillä 50 % metisilliiniherkistä kannoista ei ole tyypitettävissä tällä menetelmällä (Bannoehr & Guardabassi 2012). Tähän mennessä on tunnistettu 53 erilaista *spa*-tyyppiä, joista muodostetun tietokannan ylläpidosta vastaa Arshnee Moodley (Kööpenhaminan yliopisto, Frederiksborg, Tanska). Tietokannasta ei ole vielä saatavilla verkossa julkaistua versiota (Bannoehr & Guardabassi 2012).

### III AINEISTO JA MENETELMÄT

#### 1.1 Tavoitteet

Vuosien 2012-2013 aikana kolmella Opaskoirakoulun koiralla todettiin MRSP-tartunta, jonka mahdollista leviämistä ja sen merkitystä Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa haluttiin selvittää tarkemmin. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla sekä selvittää MRSP-tartunnan riskitekijöitä positiivisiksi todetuilla koirilla. Tutkimus oli tyypiltään retrospektiivinen poikkileikkaava kohorttitutkimus.

#### 1.2 Kohdepopulaatio ja näytteenotto

Opaskoirakoulu on Näkövammaisten keskusliitto ry:n alainen tulosityksikkö, jonka tehtävänä on kasvattaa, kouluttaa ja luovuttaa käyttöön opaskoiria sokeille ja vaikeasti heikkonäköisille. Opaskoirakoulu kasvattaa itse lähes kaikki tarvitsemansa koirat, jolla taataan määrällisesti riittävän hyvä koiramateriaali opaskoirien koulutusta varten. Harvat ostokoirat hankitaan pentuina yksityisiltä, enimmäkseen suomalaisilta kasvattajilta. Valtaosa koirista on labradorinnoutajia, mutta joukossa on myös joitakin muun rotuisia koiria (<http://opaskoirakoulu.fi/>).

Tutkittava populaatio koostui oppaana ja siitoskäytössä toimivista sekä koulutettavista koirista. Koko populaation suuruus on 346 koiraa, joista 185 (55 %) toimii oppaana, 18 (3 %) on siitoksessa ja 143 (42 %) on koulutusvaiheessa olevia koiria. Tarvittavan otoskoon laskemiseen käytettiin EpiTools-laskentaohjelmaa (<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=home>). MRSP-bakteerin esiintyvyyden koko populaatiossa arvioitiin olevan 3 % virhemarginaalin ollessa  $\pm 2$  %, jolloin tarvittavan otoskoon laskettiin olevan n.152 koiraa 330 koiran populaatiosta 95 % luottamusvälillä. Tutkimusta varten ei anottu koe-eläinlupaa tai pyydetty eettistä lausuntoa, sillä tutkimus tehtiin osana Opaskoirakoulun koirien terveydenhuoltoa Opaskoirakoulun pyynnöstä.



Näytteet otettiin näytteenottotikulla kuljetuselatusaineeseen (M40 Transsystems, kuljetusputki ilman hiiltä, Copan Diagnostis Inc, Italia). Jokaisesta tutkitusta koirasta otettiin näyte sierainten ja suun limakalvolta samaan näytteenottotikkuun sekä näyte peräaukon alueen limakalvolta erilliseen näytteenottotikkuun. Tarvittaessa otettiin myös näyte ihorikoista ja haavoista. Yhdestä eläimestä otettu näyte koostui 2-3 näytteenottotikusta. Näytteenoton yhteydessä näytteenottaja täytti tutkimuslomakkeen (liite 1), johon kirjattiin koiran nimi, rotu, sukupuoli, ikä, mahdollinen ostokoiratausta, koiraryhmä sekä hoito- ja sairaushistoria riskitekijöiden kartoitusta varten.

Hoitohistoriaa koskevissa kysymyksissä eläinlääkärikäyntien lukumäärällä tarkoitettiin mitä tahansa käyntiä eläinlääkärin vastaanotolla riippumatta käynnin syystä. Aiemmiksi iho- ja korvaoireiksi luettiin sekä yksittäiset että toistuvat iho- ja korvatulehdukset riippumatta siitä, onko tila vaatinut eläinlääkärin hoitoa. Iho- ja korvaoireiluksi tulkittiin myös selkeästi havaittava kutina ilman silmin havaittavia ihomuutoksia tai yhdessä havaittavien ihomuutosten kanssa. Aiempaa mikrobilääkehoitoa koskevassa kysymyksessä systeemisellä mikrobilääkehoidolla tarkoitettiin lähinnä suun kautta annosteltua lääkitystä. Paikalliseksi mikrobilääkehoidoksi luokiteltiin mikrobilääkkeen annostelu iholle tai korviin. Samanaikaisesti käytettynä, suunkautta ja paikallisesti annosteltu mikrobilääkitys luokiteltiin yhdeksi hoitokerraksi. Erillisiksi kuureiksi laskettiin vuorokauden tauko lääkkeen annostelussa tai lääkkeen vaihto kuurin aikana. Systeemisellä glukokortikoidihoidolla tarkoitettiin suunkautta tai parenteraalisesti annettuja glukokortikoideja. Muuksi immunosuppressiiviseksi lääkitykseksi tulkittiin muiden immunosuppressiivisten lääkkeiden kuin glukokortikoidien käyttö.

Näytteet ja tutkimuslomakkeet toimitettiin eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorioon jatkokäsittelyä varten.

### 1.3 Bakteerien eristäminen ja tunnistaminen

Samasta koirasta otetut näytteet yhdistettiin ja laitettiin rikastusliemeen (tryptikaasi-soija-liemi, jossa 6,5 % natriumkloridia, Tammer-Tutkan Maljat) kolmen vuorokauden kuluessa näytteenotosta. Rikasteviljelmiä kasvatettiin normaaliatmosfäärissä +35 °C lämpötilassa 16-22 tunnin ajan, jonka jälkeen rikasteviljelmästä siirrostettiin rikastetta valikoivalle MRSA Select --maljalle (Bio-Rad Laboratories, USA). Maljoja kasvatettiin

normaalilämpötilassa +35 °C lämpötilassa 48 tuntiin asti. Maljat luettiin 24 ja 48 tunnin kuluttua siirrostuksesta.

MRSA Select -maljalta valittiin tyypillisen näköisiä pesäkkeitä viljeltäväksi ei-valikoivalle verimaljalle (tryptikaasi-soija-agar, 5 % lampaan veri, Oxoid, Iso-Britannia). MRSA Select -maljalla MRSP-pesäkkeet kasvavat vaaleanpunaisina, kun taas MRSA-pesäkkeet ovat väriltään tummempia, marjapuuronpunaisia.

Jatkotunnistukseen valikoidut pesäkkeet numeroitiin. Alustava lajintunnistus perustui tutkituille bakteereille tyypilliseen pesäkemorfologiaan, gram-värijäykseen, katalaasi- ja putkikoagulaasitestiin sekä polymyksiini B 300 IU -herkkyyteen. Varmistukseen käytettiin tarvittaessa sokerisarjaa (Rosco Diagnostica, Tanska) tai Api Staph ID 32 -testiä (Biomerieux, Ranska).

*S.pseudintermedius* ja *S.aureus* -lajeiksi tunnistetuille bakteereille tehtiin mikrobilääkeherkkyystestaus vakioidulla kiekkoherkkyysmenetelmällä (VET01-A4, VET01-S2, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013). Herkkyys testattiin seuraaville lääkeaineille: oksasilliini, erytromysiini, klindamysiini, tetrasykliini, sulfa-trimetopriimi, fusidiinihappo, enrofloxasiini, gentamisiini ja amikasiini. MRSP- ja MRSA-kannoiksi epäillyt bakteerikannat pakastettiin PCR-menetelmällä tehtävää *mecA*-geenin osoitusta ja kantojen molekulaarista tyypitystä varten.

#### 1.4 MRSP-kantojen genotyyppitys

Metisilliiniresistenttien stafylokokkien *mecA*-geenin varmentamiseen käytettiin PCR-menetelmää. PCR-reaktiota varten bakteerien DNA eristettiin aiemmin kuvatulla tavalla (DTU Food 2012). PCR-reaktioseoksena käytettiin ohjeesta poiketen SsoAdvanced SYBR Green Supermix -reaktioseosta (Bio-Rad Laboratories, USA). PCR-alukkeina käytettiin aiemmin kuvattuja *mecA* P4- ja P7-alukkeita (DTU Food 2012). Varsinainen PCR-ajo koostui alkudenaturaatiosta (+98 °C, 2 min), denaturaatiosta (+98 °C, 5 sek) sekä alukkeiden liittymis- ja pidennysvaiheesta (+60 °C, 45 sek). Denaturaatiovaihe ja alukkeiden liittymis- sekä pidennysvaiheet toistettiin yhteensä 40 kertaa. PCR-tuotteiden oikeellisuus varmistettiin sulamiskäyrän avulla.

Metisilliiniresistenteille, *mecA*-positiivisille kannoille tehtiin lisäksi tarkempi molekulaarinen tyypitys käyttäen PFGE-, MLST- ja SCC*mec*-tyypitysmenetelmiä eristettyjen kantojen vertaamiseksi toisiinsa ja Suomessa aiemmin eristettyihin kantoihin. PFGE suoritettiin Grönthalin ym. (2014) artikkelissa kuvatulla tavalla. Kannat, jotka eivät olleet tyypitettävissä SmaI-entsyymillä, tyypitettiin AscI-entsyymillä. PFGE-profiilin mukaan valittujen kantojen MLST-tyypityksessä käytettiin Solymanin ym. (2013) kehittämää MLST7-menetelmää. Kantojen SCC*mec*-tyypitys tehtiin käyttäen aiemmin kuvattua multiplex-PCR-menetelmää (Kondo ym. 2006). Opaskoirakoulun koirilta aiemmin eristetyistä kolmesta MRSP-kannasta saatuja PFGE-, MLST- ja SCC*mec*-tyypitystuloksia sekä herkkyysmääritystuloksia verrattiin tässä tutkimuksessa eristettyjen MRSP-kantojen tyypitys- ja herkkyysmääritystuloksiin.

### 1.5 Tilastolliset menetelmät

MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyys laskettiin prosenttilukuna suhteuttamalla MRSP- ja MRSA-positiivisten koirien lukumäärä tutkittujen koirien lukumäärään. Esiintyvyyksille laskettiin 95 % luottamusvälit. Otoksen riittävyyden arvioimiseksi tutkittujen koirien lukumäärää ja todettuja MRSP- ja MRSA-esiintyvyyksiä verrattiin otoskoon laskennassa käytettyihin ja saatuihin lukuarvoihin. Otoksen edustavuus koko populaatiossa arvioitiin vertaamalla tutkittujen koirien määrää eri osapopulaatioissa (oppaat, koulutettavat, siitoskoirat) osapopulaatioiden todelliseen kokoon.

Tulosten tilastollisessa analyysissä käytettiin IBM SPSS Statistics 22.0 -ohjelmistoa (IBM). Koirien ikä-, sukupuoli- ja rotujakauma sekä hoito- ja sairaushistoriaa koskevat tunnusluvut määritettiin erikseen koko otoksessa ja MRSP-positiivisten koirien joukossa. Tutkimuslomakkeessa (liite 1) kysytyjen muuttujien (rotu, sukupuoli, ikä, ostokoiratausta, koiraryhmä sekä hoito- ja sairaushistoria lukuun ottamatta aiempaa sairaalahoitoa) yhteys MRSP-löydökseen tutkittiin logistisella regressioanalyysillä. Analyysissä jokaisen muuttujan yhteys MRSP-löydökseen arvioitiin ensin yksittäisten muuttujien analyysin avulla. Logistisen regression yksittäisten muuttujien analyysin lisäksi luokkamuuttujia tarkasteltiin nelikenttäanalyysissä MRSP-positiivisilla ja -negatiivisilla koirilla laskemalla muuttujille riskisuhteet (Risk Ratio, RR) ja suhteelle 95 % luottamusvälit. Tilastollista merkitsevyyttä arvioitiin Fisherin testin avulla; merkitsevyyden rajaksi asetettiin  $p \leq 0,05$ . Fisherin testitulokset laskettiin

verkkopohjaisilla laskimilla (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>,  
<http://vassarstats.net/fisher2x3.html>).

Muuttujien yhteys MRSP-löydökseen analysoitiin myös logistisen regression monimuuttuja-analyysillä (Backward Wald) sekoittavien tekijöiden vaikutuksen hallitsemiseksi. Monimuuttuja-analyysissä muuttujan tilastollinen merkitsevyys sai olla korkeintaan 0,15, jotta muuttuja sisällytettiin malliin. Vastaavasti pysyäkseen mallissa muuttujan tilastollinen merkitsevyys tuli olla korkeintaan 0,20. Jokaiselle muuttujalle laskettiin ristitulosuhde (Odds ratio, OR) ja tämän 95 % luottamusväli. Tilastollisesti merkitsevä tuloksena pidettiin arvoa  $p < 0,05$  (Wald).

## IV TULOKSET

### 1.1 Tutkitun populaation kuvaus

Tutkimuksessa näytteitä kerättiin 124 koirasta, joista 48 (39 %) oli opaskoiria, 8 (6 %) siitoskoiria ja 68 (55 %) koulutusvaiheen koiria. Tutkittujen koirien keski-ikä oli neljä vuotta (1-15 vuotta). Koirista 51 % (n=63) oli uroksia ja 49 % (n=61) oli narttuja. Tutkitut koirat edustivat kolmea FCI:n (Federation Cynologique Internationale) hyväksymää rotua: 94 % (n=117) oli labradorinnoutajia, 2,5 % (n=3) kultaisianoutajia ja 2,5 % (n=3) isojavillakoiria. Lisäksi yksi tutkituista koirista (1 %) oli sekarotuinen, labradorinnoutajan ja kultaisennoutajan risteytys. Alla olevassa taulukossa on esitetty tutkitun ja koko Opaskoirakoulun koirapopulaation ikä-, sukupuoli- ja rotujakaumat sekä koirien jakautuminen eri koiraryhmiin (taulukko 1).

Taulukko 1. Tutkitun ja koko Opaskoirakoulun koirapopulaation ikä-, sukupuoli- ja rotujakaumat sekä koirien jakautuminen eri koiraryhmiin.

	Koko populaatio		Tutkittu populaatio	
	n=346	%	n=124	%
<b>Sukupuoli</b>				
uros	170	49	63	51
narttu	176	51	61	49
<b>Rotu</b>				
labradorinnoutaja	320	93	117	94
muun rotuiset	26	7	7	6
<b>Koiraryhmä</b>				
opaskoirat	185	54	48	39
koulutettavat	143	41	68	55
siitoskoirat	18	5	8	6
	keskiarvo	mediaani	keskiarvo	mediaani
<b>Ikä</b>	4,71 (0,07-14,6)	4,01	4 (1-15)	2,58

Tutkitut koirat olivat käyneet eläinlääkäriissä keskimäärin viisi (0–21) kertaa edeltävän vuoden aikana. Koirista 53 % (66/124) oli saanut mikrobilääkkeitä edellisen 12 kuukauden aikana, kun taas 44,5 % (58/124) ei oltu hoidettu mikrobilääkkein edellisen 12 kuukauden aikana. Kolmen koiran (3/124, 2,5 %) edeltävän vuoden aikana mahdollisesti saamista mikrobilääkekuureista ei ollut saatavilla tietoa.

Mikrobilääkkeillä lääkityt koirat olivat saaneet keskimäärin kaksi (1-7) kuuria edeltävän vuoden aikana.

Viidelläkymmenelläyhdeksällä (59/124, 48 %) tutkitulla koiralla oli havaittu aiempia iho- tai korvaoireita. Vastaavasti 58 koiralla (58/124, 47 %) ei ollut esiintynyt oireita. Seitsemän koiran (7/124, 5 %) aiemmista oireista ei ollut saatavilla tietoa. Koirista yhdeksää (9/124, 7 %) oli hoidettu systemisesti annosteltavin glukokortikoidein edellisen 12 kuukauden aikana. Muut (115/124, 93 %) koirat eivät olleet saaneet glukokortikoideja edellisen 12 kuukauden aikana. Lisäksi yhtäkään koiraa ei oltu hoidettu muilla immunosuppressiivisilla lääkkeillä edeltävän vuoden aikana.

## 1.2 MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyys

Tutkituista koirista 3 % (4/124, 95 % luottamusväli 1-5 %) oli MRSP-positiivisia. MRSP-positiiviseksi todetuista koirista kaksi oli oppaita ja kaksi oli siitoskoiria. Koirien keski-ikä oli 6 vuotta (2–10 vuotta). MRSP-positiiviseksi todetut oppaat (n=2) olivat uros- ja narttukoiria. MRSP-positiiviset siitoskoirat (n=2) olivat narttuja. Koirat olivat rodultaan labradorinnoutajia. Kaikki tutkitut 124 koira todettiin MRSA-negatiivisiksi. MRSA-bakteerin esiintyvyys 95 % luottamusvälillä voi silti olla noin 3 %.

MRSP-positiiviseksi todetut koirat olivat käyneet eläinlääkärissä keskimäärin kymmenen (4-19) kertaa edeltävän vuoden aikana, lisäksi kolmea (3/4) koira oli hoidettu mikrobilääkkein edeltävän vuoden aikana. Mikrobilääkkeillä hoidetut kolme koira olivat saaneet keskimäärin neljä (2-5) kuuria edellisen 12 kuukauden aikana. Yhdellä MRSP-positiivisista koirista oli myös havaittu aiempia iho- tai korvaoireita. MRSP-positiiviset koirat eivät olleet saaneet systeemisiä glukokortikoideja tai muita immunosuppressiivisia lääkkeitä edellisen 12 kuukauden aikana.

## 1.3 Eristettyjen MRSP-kantojen ominaisuudet

Kaikki neljä MRSP-kannoiksi epäiltyä bakteerikantaa todettiin *mecA*-positiiviseksi. Kolme neljästä (Opas-1, Opas-2, Opas-3) MRSP-kannaksi todetusta bakteerikannasta ei ollut tyypitettävissä *SmaI*-entsyymillä. *AscI*-entsyymiä käytettäessä edellä mainitun kolmen kannan pulssikenttäprofiilit todettiin keskenään identtisiksi. Neljäs MRSP-kanta (Opas-4) oli tyypitettävissä kummallakin restriktioentsyymillä ja kannan pulssikenttäprofiili erosi edellä mainittujen kolmen kannan pulssikenttäprofiilista (kuva 1).

Pulssikenttäprofiileiltaan identtisiksi osoitetut kolme kantaa kuuluivat sekvenssityyppiin ST45. Kannat eivät olleet tyypitettävissä *SCC<sub>mec</sub>*-menetelmällä. Neljäs kanta oli sekvenssityyppiä ST71 ja *SCC<sub>mec</sub>*-tyyppiä II-III. Sekvenssityyppiin ST45 kuuluvien kantojen herkkyysprofiilit olivat keskenään samanlaisia. Kannat olivat resistenttejä oksasilliinille, erytromysiinille, klindamysiinille, tetrasykliinille, enrofloxasiinille sekä gentamisiinille ja herkkiä ainoastaan sulfa–trimetopriimille, fusidiinihapolle sekä

amikasiinille. Neljannen MRSP-kannan herkkyysprofiili erosi muista kannoista. Tämä kanta oli resistentti oksasilliinille, erytromysiinille, klindamysiinille, enrofloksasiinille sekä gentamisiinille ja herkkä ainoastaan tetrasykliinille, fusidiinihapolle sekä amikasiinille (kuva 1).

Kahdelta opaskoiralta (Opas-2a, Opas-3a) aiemmin eristetyistä MRSP-kannoista ei ole vielä olemassa lopullisia MLST-tyypitystuloksia, mutta alustavien tulosten perusteella kannat ovat lähimpänä sekvenssityyppejä ST150 (Opas-2a) ja ST41 (Opas-3a). Näistä kahdesta kannasta ensimmäinen (Opas-2a) on SCCmec-tyyppiä V, toisen (Opas-3a) SCCmec-tyyppi on määrittämättä. Kolmannelta opaskoiralta (Opas-1a) eristetty kanta oli sekvenssityyppiä ST71 ja SCCmec-tyyppiä II-III. Kaikkien kolmen kannan mikrobilääkeherkkyysprofiilit erosivat toisistaan ja tässä tutkimuksessa eristettyjen kantojen herkkyysprofiileista (kuva 1).



Kuva 1. Eristettyjen MRSP-kantojen pulssikenttäprofiilit (Ascl), mikrobilääkeherkkydet, SCCmec- ja sekvenssityypit (MLST).

(Opas-1 ja -4 ovat MRSP-positiivisia opaskoiria ja Opas-2 sekä -3 siitoskoiria, kontakti-1 on Opas-2 kontaktikoira. Oppaat-1a, -2a ja -3a ovat aiemmin MRSP-positiiviseksi todettuja opaskoiria).

#### 1.4 MRSP:n riskitekijät

Yksittäisten muuttujien analyysissä eläinlääkärikäyntien lukumäärän edellisen 12 kuukauden aikana ja antibioottikuurien lukumäärän edellisen 12 kuukauden aikana todettiin lisäävän MRSP-löydöksen riskiä. Myös koiran iän, aiempien iho- tai korvaoireiden, siitoskoiriin kuulumisen ja MRSP-löydöksen välisen yhteyden todettiin lähestyvän tilastollisen merkitsevyyden rajaa. Monimuuttuja-analyysissä tutkittujen muuttujien ei kuitenkaan todettu olevan yhteydessä MRSP-löydökseen (taulukko 2).

Taulukko 2. Logistisen regressioanalyysin tulokset MRSP:n riskitekijöistä Opaskoirakoulun koirilla.

Luokkamuuttujat	MRSP-pos		MRSP-neg		Univariaattianalyysi	
	n=4		n=120		Ristitulosuhde, OR	Wald
	n	%	n	%	(95 % luottamusväli)	p-arvo
Sukupuoli (urokset vs. nartut)	1	25	62	52	0,3 (0,03–3,0)	0,319
Rotu (labradorinnoutajat vs. muut)	4	100	113	94	5,7x10 <sup>^7</sup> (0–∞)	0,999
Osto vai oma	4	100	108	90	5,9x10 <sup>^7</sup> (0–∞)	0,999
Koiraryhmä:						
oppaat	2	50	46	38	vertailu	0,175
koulutettavat	0	0	68	57	0 (0–∞)	0,997
siitoskoirat	2	50	6	5	7,6 (0,9–64,9)	0,062
Aiempiä iho- tai korvaoireita	1	25	58	51	0,3 (0,3–31,1)	0,062
Systeeminen tai paikallinen antibioottihoito edellisen 12 kk:n aikana	3	75	63	54	2,5 (0,2–25,4)	0,419
Systeeminen glukokortikoidihoito edellisen 12 kk:n aikana	0	0	9	8	0 (0–∞)	0,999
Muu immunosuppressiivinen lääkitys edellisen 12 kk:n aikana	0	0	0	0	-	-
Ikä (0–5 v vs. > 5 v)	1	25	86	76	0,1 (0,01–1,0)	0,055
Jatkuvat muuttujat	MRSP-pos		MRSP-neg		Univariaattianalyysi	
	n=4		n=120		Ristitulosuhde, OR	Univariaatti
	n	mediaani	n	mediaani	(95 % luottamusväli)	p-arvo
Eläinlääkärikäyntien lukumäärä edellisen 12 kk:n aikana	4	8	119	4	1,2 (1,0–1,5)	0,028
Antibioottikuurien lukumäärä edellisen 12 kk:n aikana	3	4	63	1	1,6 (1,0–2,5)	0,045

Fisherin testissä koiraryhmän ja MRSP-löydöksen välillä (p=0,004) todettiin tilastollisesti merkitsevä yhteys toisin kuin logistisessa regressiossa yksittäisten muuttujien analyysissä. Lisäksi koiran iän todettiin lähestyvän tilastollisen merkitsevyyden rajaa samoin kuin yksittäisten muuttujien analyysissä (taulukko 3).



Taulukko 3. Fisherin testin tulokset MRSP:n riskitekijöistä Opaskoirakoulun koirilla.

Fisherin testi	MRSP-pos		MRSP-neg		Relatiivinen riski, RR (95 % luottamusväli)	p-arvo
Luokkamuuttujat	n=4		n=120			
	n	%	n	%		
Rotu (labradorinnoutajat vs. muut)	4	100	113	94		1
Sukupuoli (urokset vs. nartut)	1	25	62	52	0,3 (0,03-3,0)	0,361
Ikä (0–5 v vs. > 5 v)	1	25	86	76	0,1 (0,01-1,0)	0,051
Ostokoira vai oma kasvatti	0	0	108	90		1
Koiraryhmä						0,004
oppaat	2	50	46	38		
koulutettavat	0	0	68	57		
siitoskoirat	2	50	6	5		
Aiempiä iho- tai korvaoireita	1	25	58	51	0,3 (0,0-3,0)	0,364
Systeeminen tai paikallinen antibioottihoito edellisen 12 kk:n aikana	3	75	63	54	2,5 (0,2-23,3)	0,625
Systeeminen glukokortikoidihoito edellisen 12 kk:n aikana	0	0	9	8	0	1

## V POHDINTA

MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyttä suomalaisilla koirilla ei ole aiemmin tutkittu (Thomas Grönthal, suullinen tiedonanto). Opaskoirakoulun koirilla todetut MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyydet eivät poikkeaa aiemmin muualla todetuista esiintyvyyksistä koirilla (Vengust ym. 2006, Hanselman ym. 2009, Weese 2010, Gingrich ym. 2011). Tässä tutkimuksessa todettu MRSP:n 3 % esiintyvyys oli odotettu ja vastasi ennen tutkimusta tehtyä arviota bakteerin esiintyvyydestä Opaskoirakoulun koirilla. MRSA:n esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla ei arvioitu etukäteen, mutta tulosta voidaan pitää odotettuna verrattaessa aiempiin tutkimuksiin. Kummankaan bakteerin esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla ei voida pitää erityisen korkeana. Tässä tutkimuksissa saatuja tuloksia ei voida yleistää koskemaan kaikkia suomalaisia koiria, sillä Opaskoirakoulun koirat eivät muodosta edustavaa otosta Suomen koirapopulaatiosta. Opaskoirakoulun koulutettavien koirien asuin ympäristö poikkeaa muiden suomalaisten koirien asuin ympäristöstä. Koirilla voidaan olettaa myös olevan keskimääräistä enemmän koirakontakteja, jotka edistävät tartuntojen leviämistä. Lisäksi suurin osa koirista on labradorinnoutajia, joilla esiintyy useita muita rotuja useammin MRSP-tartunnalle altistavia allergisia ihosairauksia (Wilhem ym. 2011). Bakteerien

todellisten esiintyvyyksien selvittäminen suomalaisilla koirilla vaatisi tutkimuksia vähemmän rajatuissa populaatioissa. Ilman tietoa bakteerin todellisesta esiintyvyydestä suomalaisilla koirilla, ei voida ottaa kantaa, poikkeako bakteerien esiintyvyys Opaskoirakoulun koirilla bakteerien esiintyvyydestä muilla suomalaisilla koirilla.

Tässä tutkimuksessa kolmelta koiralta eristettyjen MRSP-kantojen pulssikenttäprofiilit todettiin keskenään identtisiksi. Nämä kannat kuuluivat sekvenssityyppiin ST45 eivätkä olleet tyypitettävissä *SCCmec*- tai *SmaI*-PFGE–menetelmällä. Vastaavia sekvenssityyppiin ST45 kuuluvia kantoja, jotka eivät ole tyypitettävissä *SCCmec*- tai *SmaI*-PFGE–menetelmällä, on aiemmin eristetty Israelissa, Thaimaassa ja Hollannissa (Laarhoven ym. 2011, Perreten ym. 2013). Israelissa ja Thaimaassa tämä kanta on vallitseva MRSP-kanta (Perreten ym. 2013). Suomessa sekvenssityyppiin ST45 kuuluvia kantoja on eristetty aiemminkin, mutta niistä ei ole vielä olemassa *SCCmec*-tyypitystuloksia (Thomas Grönthal, suullinen tiedonanto)

Keskenään identtisten MRSP-kantojen löytyminen Opaskoirakoulun kahdelta siitoskoiralta ja yhdeltä opaskoiralta viittaa yhteiseen tartuntalähteeseen ja/tai bakteerin siirtymiseen ko. koirien välillä. Koirat, joilta eristettiin sama MRSP-kanta, asuivat eri kodeissa, eikä koirien mahdollisista yhteisistä tartuntalähteistä tai keskinäisestä kontaktista saatu tietoa tätä tutkimusta varten. Toinen Opaskoirakoulun MRSP-positiivista siitoskoirista asui sijoituskodin tarjoavan eläintenhoitajan luona kahden muun koiran kanssa. Myös nämä kaksi koiraa todettiin MRSP-positiivisiksi. Huomionarvoista on, että toiselta MRSP-positiiviselta kontaktikoiralta eristetty MRSP-kanta oli eri sekvenssityyppiä kuin sen kanssa asuvalta MRSP-positiiviselta siitoskoiralta eristetty kanta. Eristetyn kannan todettiin kuuluvan sekvenssityypin ST45 sijasta sekvenssityyppiin ST71. Toiselta MRSP-positiiviselta kontaktikoiralta eristettyä MRSP-kantaa ei tyypitetty genotyyppisin menetelmin, mutta sen mikrobilääkeherkkyyprofiili oli samanlainen kuin kolmen muun keskenään identtisen kannan mikrobilääkeherkkyyprofiili. Tästä johtuen on mahdollista, että tästä koirasta eristetty kanta on sama kuin kolmella MRSP-positiivisella Opaskoirakoulun koiralla. Mikäli kanta olisi sama kuin edellä mainituilla koirilla, se viittaisi tämän koiran saaneen tartunnan sen kanssa asuvalta MRSP-positiiviselta siitoskoiralta tai päinvastoin. Muiden MRSP-positiivisten Opaskoirakoulun koirien kanssa mahdollisesti asuvista eläimistä ei saatu tietoa tätä tutkimusta varten.

Yhdeltä MRSP-positiivisista oppaista eristettiin sekvenssityyppiin ST71 kuuluva, SCC*mec*-tyyppiä II-III edustava kanta. Tämä on Euroopan ja maailmanlaajuisesti yleisin MRSP-kanta (Perreten ym. 2010, Ruscher ym. 2010). Suomessa tämän kannan on aiemmin todettu aiheuttaneen mm. sairaalaepidemian Yliopistollisessa pieneläinsairaalassa. Ennen tätä vuosien 2010-2012 aikana ilmennyttä epidemiaa, kanta oli erittäin harvinainen suomalaisilla koirilla (Grönthal ym. 2014). Tämä kanta oli sekvenssityypiltään ja mikrobilääkeherkkyysprofiiltaan samanlainen kuin toinen aiemmin mainitun MRSP-positiivisen siitoskoiran kontaktikoirilta eristetty MRSP-kanta. Tämän kannan löytyminen kahdelta koiralta, joilla ei todettu olevan suoraa yhteyttä toisiinsa, on mahdollisesti osa laajempaa ilmiötä, jossa tietyt kannat esiintyvät vallitsevina tietyillä maantieteellisillä alueilla.

Kolmelta Opaskoirakoulun koiralta aiemmin eristettyjen MRSP-kantojen todettiin eroavan nyt eristetyistä MRSP-kannoista. Kahdella koirista eristetyt kannat olivat eri sekvenssityyppiä kuin tässä tutkimuksessa eristetyt kannat. Lisäksi kolmannelta koiralta eristetyn sekvenssityypin ST71 kannan mikrobilääkeherkkyysprofiili erosi tässä tutkimuksessa eristettyjen sekvenssityyppiin ST71 kuuluvien kantojen mikrobilääkeherkkyysprofiilista. Aiemmin eristettyjen kantojen pulssikenttäprofiilien todettiin myös eroavan toisistaan sekä tässä tutkimuksessa eristettyjen kantojen pulssikenttäprofiileista. Opaskoirakoulun koirilta aiemmin eristettyjen kantojen erilaisuus verrattuna tässä tutkimuksessa eristettyihin kantoihin viittaa siihen, että Opaskoirakoululla ei ole laajamittaista MRSP-epidemiaa. Lukuun ottamatta tässä tutkimuksessa eristettyjä kolmea identtistä kantaa erilaisten kantojen löytyminen usealta Opaskoirakoulun koiralta tarkoittaa todennäköisimmin sitä, että tartuntalähteitä on useita. Tarkempia tartuntalähteitä ei kuitenkaan kyetty selvittämään.

MRSP-riskitekijöiden selvittämiseksi tehdyssä yksittäisten muuttujien analyysissä ainoiksi tilastollisesti merkitseviksi riskitekijöiksi MRSP-löydökselle todettiin eläinlääkärikäyntien lukumäärä ja saatujen antibioottikuurien lukumäärä edellisen 12 kuukauden aikana. Yksittäisten muuttujien analyysiä seuranneessa monimuuttujanalyysissä yhdenkään tutkitun muuttujan ei kuitenkaan todettu olevan yhteydessä MRSP-löydökseen. Edellä mainittu tulos on todennäköisimmin seurausta MRSP-positiivisten koirien alhaisesta lukumäärästä aineistossa. Nyt saatuja, toisaalta aiempien

tutkimusten kanssa osin yhteneviä tuloksia voidaankin pitää lähinnä suuntaa antavina. Lisäksi on mahdollista, että on olemassa jokin tuntematon riskitekijäanalyysiin vaikuttanut MRSP-löydökselle altistava muuttuja, jota ei tässä tutkimuksessa tutkittu. Tämän kaltainen tuntematon muuttuja voisi olla esimerkiksi suora kontakti MRSP-positiiviseen koiraan tai oleskelu samoissa tiloissa MRSP-positiivisen koiran kanssa. Tätä tutkimusta varten edellä mainitun kaltaista tietoa Opaskoirakoulun koirista ei ollut helposti saatavilla.

Tässä tutkimuksessa MRSP-positiivisten koirien todettiin altistuneen useille riskitekijöille, jotka aiempien tutkimusten mukaan lisäävät MRSP-tartunnan todennäköisyyttä. MRSP-positiiviset koirat olivat käyneet keskimääräistä enemmän eläinlääkäriissä ja saaneet useampia antibioottikuureja edeltävän vuoden aikana kuin MRSP-negatiiviset koirat. Lisäksi yhdellä koirista oli ilmennyt edeltäviä iho- ja korvaoireita, jotka voivat viitata allergiseen ihosairauteen. Allergisten ihosairauksien on aiemmin todettu altistavan MRSP:lle (Huerta ym. 2011, Lehner ym. 2014). Sen lisäksi, että allergiset ihosairaudet altistavat suoraan MRSP:lle muuttamalla ihon ominaisuuksia, ne myös lisäävät riskiä välillisesti kasvattamalla eläinlääkärikäyntien ja allergisiin ihosairauksiin usein liittyvien toissijaisten infektioiden hoidossa tarvittavien antibioottikuurien lukumäärää (Fazakerley ym. 2009, Nienhoff ym. 2011, Beck ym. 2012, Lehner ym. 2014). Muista tunnetuista MRSP:n riskitekijöistä tutkimuslomakkeessa kysyttyä (liite 1) koirien aiempaa sairaalahoitohistoriaa (> 24 h) ei kyetty selvittämään, sillä tieto ei ollut helposti saatavilla koirien hoito- ja sairaushistorian sisältävästä ohjelmistosta. Tällä on voinut olla vaikutusta mm. tässä tutkimuksessa tehtyyn MRSP-riskitekijäanalyysiin, sillä MRSP:tä pidetään joissain lähteissä edelleen enemmän sairaalaoi ympäristössä kuin yhteisöissä esiintyvänä patogeenina (Lehner ym. 2014).

Tähän tutkimukseen liittyy joitakin rajoituksia ja heikkouksia. MRSP-bakteerin arvioidun esiintyvyyden toteamiseksi tarvittava otoskoko jäi vajaaksi, sillä toteutunut otoskoko oli 28 koira laskennallista otoskokoa pienempi. Vajeen vaikutus MRSP-bakteerin arvioidun esiintyvyyden tarkkuuteen koko populaatiossa on kuitenkin vähäinen, minkä vuoksi toteutunutta otoskokoa voidaan pitää riittävänä vajeesta huolimatta. MRSA-bakteerin esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla ei arvioitu tutkimusta suunniteltaessa eikä bakteerin mahdollista esiintyvyyttä huomioitu

tarvittavan otoskoon laskennassa. Tutkituilla Opaskoirakoulun koirilla ei todettu esiintyvän MRSA-bakteeria. Koska otoskoko ei vaikuta merkittävästi lukuarvon 0 ylemmään 95 % luottamusväliin, arviota MRSA-bakteerin esiintyvyydestä ei toisaalta kyettäisi juurikaan tarkentamaan otoskoko kasvatamalla (Giesecke 2002). Edellä mainitusta syystä otoksen (n=124) voidaan olettaa arvioivan riittävällä tarkkuudella bakteerin esiintyvyyttä Opaskoirakoulun koirilla. Otoksen riittävyteen liittyvien rajoitteiden lisäksi otoksen edustavuus ei ole paras mahdollinen, sillä toteutuneessa otoksessa opaskoirat ovat aliedustettuina verrattuna kahteen muuhun osapopulaatioon. Oppaiden osuus Opaskoirakoulun koirapopulaatiossa on 55 % (185/338), kun taas toteutuneessa otoksessa oppaiden osuus on ainoastaan 39 % (48/124). Tärkein syy oppaista kerättyjen näytteiden alhaiseen lukumäärään oli koirien huonompi saavutettavuus verrattuna koulutettaviin ja siitoskoiriin. Otoksen painottuminen koulutettavien ja siitoskoirien muodostamiin osapopulaatioihin on mahdollinen harhan lähde, jolla voi olla vaikutusta arvioituihin MRSP- ja MRSA-bakteerien esiintyvyyksiin. Muutoin otoksen voidaan katsoa edustavan koko populaatiota, koska tutkittujen koirien ikä-, sukupuoli- ja ikäjakaumat vastasivat koko populaation vastaavia.

MRSP-tartuntariskiä Opaskoirakoulun koirilla voidaan pitää melko vähäisenä, vaikka joukossa on todettu MRSP-positiivisia yksilöitä. Kaikki MRSP-positiiviseksi todetut koirat ovat tähän mennessä olleet joko opas- tai siitoskoiria, joista etenkin oppaiden oleskelu Opaskoirakoulun tiloissa ja kontakti Opaskoirakoulun muihin koiriin on varsin rajallista. Oppaisiin verrattuna siitoskoirat viettävät enemmän aikaa Opaskoirakoululla, minkä lisäksi näistä prosentuaalisesti suuri osuus todettiin MRSP-positiiviseksi. Koirien käyttötarkoitus ja edellä mainitut syyt huomioiden kaikista siitoskoirista tulisi mahdollisesti ottaa tulevaisuudessa MRSP-seulontanäytteet todellisen tartuntariskin arvioimiseksi. Tällä hetkellä Opaskoirakoulun tiloissa tapahtuvien tartuntojen ehkäisemisessä riittävät mielestäni normaalit varotoimet, joita ovat mm. hyvä käsihygienia ja tilojen sekä välineiden puhdistaminen ja desinfiointi käytön jälkeen. Lisäksi mikäli Opaskoirakoulun tiloissa oleskelee MRSP-positiiviseksi todettu yksilö, tämän kontakti muihin koiriin tulisi minimoida, minkä lisäksi tilat, joissa MRSP-positiivinen koira on oleskellut, tulisi puhdistaa ja desinfioida huolellisesti oleskelun päätyttyä. Opaskoirakoululla on jo tällä hetkellä olemassa erilaisia toimintamalleja, joilla tartuntojen leviäminen pyritään estämään. Jatkossa tulisi pohtia kuitenkin entistä tarkemmin, miten juuri MRSP-tartuntoja pyritään torjumaan.

Koiran MRSP-tartunta on herättänyt huolta Opaskoirakoulun työntekijöissä ja osassa MRSP-positiivisten koirien haltijoista. Terveiden ihmisten on kuitenkin vain harvoin todettu olevan MRSP-positiivisia, minkä lisäksi MRSP-infektiot ovat erittäin harvinaisia ihmisillä (Hanselman ym. 2009, van Duijkeren ym. 2011, van Duijkeren ym. 2011). Tartuntariskiä ei toisaalta tule vähätellä liikaa, ja tapauskohtaisesti voidaan joutua harkitsemaan MRSP-positiivisesta koirasta luopumista, etenkin mikäli omistajalla on jokin erityinen alttius infektioille, esimerkiksi jokin immunosuppressiivinen lääkitys tai sairaus.

Viidestä tässä tutkimuksessa ja ennen tätä tutkimusta MRSP-positiiviseksi todetusta Opaskoirakoulun koirasta (n=7) on otettu seurantanäytteitä. Koirista neljä (4/7) on todettu MRSP-negatiiviseksi kolmessa tai useammassa näytteessä. Neljälle positiiviseksi todetuista koirista on tehty häätöhoito aiemmin julkaistussa artikkelissa kuvatulla tavalla (Saijonmaa-Koulumies ym. 1998). Häätöhoidetuista koirista kolme on todettu toistuvasti negatiiviseksi, yksi koirista on todettu viimeisimmässä näytteessä positiiviseksi. Tällä hetkellä ei ole olemassa tarkkoja kriteereitä, kuinka monen negatiivisen seurantanäytteen jälkeen koiran voidaan todeta puhdistuneen MRSP-bakteerista. Tämä johtuu todennäköisesti osaltaan siitä, että tutkimuksia MRSP-bakteerin pitkäaikaisesta kantajuudesta ei ole juurikaan tehty (Windahl ym. 2012). Myöskään häätöhoidon pitkäaikaistehosta ei ole riittävää näyttöä. Tutkimustiedon puute on varmaankin johtanut mm. siihen, että kerran MRSP-positiiviseksi todetun eläimen kosketuseristystoimia eläinlääkärivastaanotoilla ei suositella purettaviksi negatiivisista tuloksista huolimatta (Elintarviketurvallisuusvirasto 2010, Rantala 2011).

MRSP-kannoilla esiintyvä mikrobilääkeresistenssi rajoittaa merkittävästi infektioiden hoitoon soveltuvien mikrobilääkkeiden lukumäärää ja on pakottanut kehittämään vaihtoehtoisia hoitomuotoja infektioiden parantamiseksi. Ihoinfektioiden hoidossa paljon käytettyjä suun kautta annosteltuja mikrobilääkkeitä on jouduttu mm. korvaamaan paikallishoitoon soveltuvilla valmisteilla. Ihotulehduksissa usein taustalla olevien infektioiden altistavien sairauksien ja tekijöiden hallinnan merkitys on myös korostunut, sillä toissijaisten bakteeri-infektioiden hoito on muuttunut aiempaa huomattavasti työläemmäksi. Ihoinfektioita invasiivisemmissä infektioissa paikallishoidon ei voida ajatella tulevan kyseeseen, jolloin keinot infektion

hallitsemiseksi ovat erittäin rajalliset. Joissain tapauksissa on eläimille suositeltu käytettäväksi WHO:n ihmisille kriittisen tärkeiksi määrittelemiä mikrobilääkkeitä, joille bakteerin on todettu oleva herkkä (Papich 2012). Tämän kaltaista toimintaa ei tule mielestäni tukea, sillä uusia mikrobilääkkeitä ei ole näköpiirissä. Suomessa näiden mikrobilääkkeiden käyttö eläimille on kielletty lääkekieltoasetuksella (MMM 847/2008).

MRSP-bakteerin yleistuminen eläimillä on pakottanut tarkastelemaan mikrobilääkehoitoa ja sen tarpeellisuutta entistä kriittisemmin silmin. Mikrobilääkkeiden käytön tulisi rajoittua tilanteisiin, joissa se todetaan välttämättömäksi, ja mikäli muita keinoja infektion parantamiseksi ei ole käytettävissä. Painopisteen tulisi olla ensisijaisesti infektioiden syntyä ja patogeenien leviämistä ennaltaehkäisevässä työssä. Tämä korostuu erityisesti MRSP-riskiä hallittaessa, sillä ainakin Suomessa MRSP-bakteeria pidetään yhä enemmän sairaalaolosuhteissa kuin yhteisöissä tarttuvana.

## VI KIITOKSET

Erityiskiitos ELT, pieneläinsairauksien erikoiseläinlääkäri ja dermatologian dosentti Leena Saijonmaa-Koulumiehelle sekä Vesa Väkevälle ja Riitta Liimataiselle Opaskoirakoululta tämän projektin mahdollistamisesta.

Suurkiitos ELT, tarttuvien tautien sairauksien erikoiseläinlääkäri Merja Rantalalle ja ELL, tohtorikoulutettava Thomas Grönthalille tuesta ja ohjauksesta tutkielman teossa.

Kiitos myös Marja Matikalle ja Gina Mederille laboratoriotyöskentelyyn saamastani avusta.

Lopuksi haluan vielä kiittää kaikkia MRSP-kantojen tyypittämiseen osallistuneita henkilöitä.

## VII LÄHDELUETTELO

- Alipour, F, Ahmadi, M, Javadi, S (2014). "Evaluation of different methods to detect methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (MRSA)." Journal of infection and public health **7**(3): 186-191.
- Allaker, RP, Lloyd, DH, Bailey, RM (1992). "Population sizes and frequency of staphylococci at mucocutaneous sites on healthy dogs." (0042-4900 (Print)).
- Baddour, MM, AbuElKheir, MM, Fatani, AJ (2007). "Comparison of *mecA* polymerase chain reaction with phenotypic methods for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." Current microbiology **55**(6): 473-479.
- Bannerman, TL, Peacock, SJ (2007). *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-positive Cocci. Manual of Clinical Microbiology volume 1*. Washington, DC, vol, ASM Press. **9th**: 390-411.
- Bannoehr, J, Ben Zakour, NL, Waller, AS, Guardabassi, L, Thoday, KL, van den Broek, AH, Fitzgerald, JR (2007). "Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains." Journal of Bacteriology **189**(23): 8685-8692.
- Bannoehr, J, Franco, A, Iurescia, M, Battisti, A, Fitzgerald, JR (2009). "Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*." Journal of clinical microbiology **47**(2): 469-471.
- Bannoehr, J, Guardabassi, L (2012). "Staphylococcus pseudintermedius in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity." Veterinary dermatology **23**(4): 253-266, e251-252.
- Beck, KM, Waisglass, SE, Dick, HL, Weese, JS (2012). "Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their methicillin-resistant or methicillin-sensitive staphylococcal pyoderma." Veterinary dermatology **23**(4): 369-375, e366-367.
- Beco, L, Guaguere, E, Lorente Mendez, C, Noli, C, Nuttall, T, Vroom, M (2013). "Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part 2-- antimicrobial choice, treatment regimens and compliance." (2042-7670 (Electronic)).
- Bemis, DA, Jones, R, Frank, LA, Kania, SA (2009). "Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs." (1040-6387 (Print)).
- Bemis, DA, Jones, R, Videla, R, Kania, SA (2012). "Evaluation of cefoxitin disk diffusion breakpoint for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs." (1943-4936 (Electronic)).
- Bergstrom, A, Gustafsson, C, Leander, M, Fredriksson, M, Gronlund, U, Trowald-Wigh, G (2012). "Occurrence of methicillin-resistant Staphylococci in surgically treated dogs and the environment in a Swedish animal hospital." The Journal of small animal practice **53**(7): 404-410.
- Black, CC, Solyman, SM, Eberlein, LC, Bemis, DA, Woron, AM, Kania, SA (2009). "Identification of a predominant multilocus sequence type, pulsed-field gel electrophoresis cluster, and novel staphylococcal chromosomal cassette in clinical isolates of *mecA*-containing, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*." Veterinary microbiology **139**(3-4): 333-338.
- Blaiotta, G, Fusco, V, Ercolini, D, Pepe, O, Coppola, S (2010). "Diversity of *Staphylococcus* species strains based on partial *kat* (catalase) gene sequences and design of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (*S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, and *S. schleiferi* subsp. *coagulans*)." Journal of clinical microbiology **48**(1): 192-201.



Bryan, J, Frank, LA, Rohrbach, BW, Burgette, LJ, Cain, CL, Bemis, DA (2012). "Treatment outcome of dogs with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma." Veterinary dermatology **23**(4): 361-368, e365.

Cox, HU, Hoskins, J, Newman, SS, Foil, CS, Turnwald, GH, Roy, AF (1988). "Temporal study of staphylococcal species on healthy dogs." (0002-9645 (Print)).

Cox, HU, Newman, SS, Roy, AF, Hoskins, JD (1984). "Species of *Staphylococcus* isolated from animal infections." (0010-8901 (Print)).

de la Maza, LM, Pezzlo, MT, Shigei, JT, Tan, GL, Peterson, EM (2013). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. Color Atlas of Medical Bacteriology. Washington, DC, ASM Press. **2nd**: 1-10.

Detwiler, A, Bloom, P, Petersen, A, Rosser, EJ, Jr. (2013). "Multi-drug and methicillin resistance of staphylococci from canine patients at a veterinary teaching hospital (2006-2011)." The Veterinary quarterly **33**(2): 60-67.

Devriese, LA, De Pelsmaecker, K (1988). "The anal region as a main carrier site of *Staphylococcus intermedius* and *Streptococcus canis* in dogs." (0042-4900 (Print)).

Devriese, LA, Hermans, K, Baele, M, Haesebrouck, F (2009). "*Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*." Veterinary microbiology **133**(1-2): 206-207.

Dowling, PM (2013). Miscellaneous Antimicrobials: Ionophores, Nitrofurans, Nitroimidazoles, Rifamycins, and Others  
Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine  
S. Giguere, Prescott, J.F., Dowling, P.M.: 315-332.

DTU Food, NFI (2012). Protocol for PCR amplification of *mecA*, *mecC* (*mecAlga251*), *spa* and *PVL*.

Eckholm, NG, Outerbridge, CA, White, SD, Sykes, JE (2013). "Prevalence of and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from dogs with pyoderma in northern California, USA." Veterinary dermatology **24**(1): 154-161.e134.

Elintarviketurvallisuusvirasto, E (2010). Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* -suositus tartunnan torjunnasta ja ehkäisystä eläimillä.

Faires, MC, Tater, KC, Weese, JS (2009). "An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet." Journal of the American Veterinary Medical Association **235**(5): 540-543.

Faires, MC, Traverse, M, Tater, KC, Pearl, DL, Weese, JS (2010). "Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* infections in dogs." Emerging infectious diseases **16**(1): 69-75.

Fazakerley, J, Nuttall, T, Sales, D, Schmidt, V, Carter, SD, Hart, CA, McEwan, NA (2009). "Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs." Veterinary dermatology **20**(3): 179-184.

Fazakerley, J, Williams, N, Carter, S, McEwan, N, Nuttall, T (2010). "Heterogeneity of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from atopic and healthy dogs." Veterinary dermatology **21**(6): 578-585.

Frank, LA, Kania, SA, Kirzeder, EM, Eberlein, LC, Bemis, DA (2009). "Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*." Veterinary dermatology **20**(5-6): 496-501.

Frank, LA, Loeffler, A (2012). "Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: clinical challenge and treatment options." Veterinary dermatology **23**(4): 283-291, e256.

Giesecke, J (2002). Modern Infectious Disease Epidemiology.

Gingrich, EN, Kurt, T, Hyatt, DR, Lappin, MR, Ruch-Gallie, R (2011). "Prevalence of methicillin-resistant staphylococci in northern Colorado shelter animals." Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc **23**(5): 947-950.

Griffeth, GC, Morris, D, Abraham, JL, Shofer, FS, Rankin, SC (2008). "Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin." (1365-3164 (Electronic)).

Grönthal, T, Moodley, A, Nykasenoja, S, Junnila, J, Guardabassi, L, Thomson, K, Rantala, M (2014). "Large Outbreak Caused by Methicillin Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish Veterinary Teaching Hospital - From Outbreak Control to Outbreak Prevention." PLoS One **9**(10): e110084.

Guardabassi, L, Loeber, ME, Jacobson, A (2004). "Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners." Veterinary microbiology **98**(1): 23-27.

Hajek, V (1976). "*Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals." International Journal of Systematic Bacteriology(26): 401-408.

Hanselman, BA, Kruth, SA, Rousseau, J, Weese, JS (2009). "Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets." The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne **50**(9): 954-958.

Hanssen, AM, Ericson Sollid, JU (2006). "SCCmec in staphylococci: genes on the move." FEMS immunology and medical microbiology **46**(1): 8-20.

Harvey, RG, Noble, WC (1994). "A Temporal Study Comparing the Carriage of *Staphylococcus intermedius* on Normal Dogs with Atopic Dogs in Clinical Remission." Veterinary Dermatology **5**(1): 21-25.

Huerta, B, Maldonado, A, Ginel, PJ, Tarradas, C, Gomez-Gascon, L, Astorga, RJ, Luque, I (2011). "Risk factors associated with the antimicrobial resistance of staphylococci in canine pyoderma." (1873-2542 (Electronic)).

Kadlec, K, van Duijkeren, E, Wagenaar, JA, Schwarz, S (2011). "Molecular basis of rifampicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs." (1460-2091 (Electronic)).

Kondo, Y, Ito, T, Ma, XX, Watanabe, S, Kreiswirth, BN, Etienne, J, Hiramatsu, K (2006). "Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions." (0066-4804 (Print)).

Korkeala, H (2007). *Staphylococcus aureus*. Elintarvikehygienia, ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki, WSOY Oppimateriaalit Oy. **1st**: 62-65.

Laarhoven, LM, de Heus, P, van Luijn, J, Duim, B, Wagenaar, JA, van Duijkeren, E (2011). "Longitudinal study on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in households." PloS one **6**(11): e27788.

Lehner, G, Linek, M, Bond, R, Lloyd, DH, Prenger-Berninghoff, E, Thom, N, Straube, I, Verheyen, K, Loeffler, A (2014). "Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany." Veterinary microbiology **168**(1): 154-160.

Leonard, FC, Markey, BK (2008). "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review." Veterinary journal (London, England : 1997) **175**(1): 27-36.

Loeffler, A, Baines, SJ, Toleman, MS, Felmingham, D, Milsom, SK, Edwards, EA, Lloyd, DH (2008). "In vitro activity of fusidic acid and mupirocin against coagulase-positive staphylococci from pets." The Journal of antimicrobial chemotherapy **62**(6): 1301-1304.

Loeffler, A, Pfeiffer, DU, Lindsay, JA, Soares Magalhaes, RJ, Lloyd, DH (2011). "Prevalence of and risk factors for MRSA carriage in companion animals: a survey of dogs, cats and horses." Epidemiology and infection **139**(7): 1019-1028.

Magiorakos, AP, Srinivasan, A, Carey, RB, Carmeli, Y, Falagas, ME, Giske, CG, Harbarth, S, Hindler, JF, Kahlmeter, G, Olsson-Liljequist, B, Paterson, DL, Rice, LB, Stelling, J, Struelens, MJ, Vatopoulos, A, Weber, JT, Monnet, DL (2012). "Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance." Clinical Microbiology and Infection **18**(3): 268-281.

McEwan, NA (2000). "Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine keratinocytes in atopic dermatitis." (0034-5288 (Print)).

McEwan, NA, Kalna G, Fau - Mellor, D, Mellor, D (2005). "A comparison of adherence by four strains of *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hominis* to canine corneocytes collected from normal dogs and dogs suffering from atopic dermatitis." (0034-5288 (Print)).

McEwan, NA, Mellor, D, Kalna, G (2006). "Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes: a preliminary study comparing noninflamed and inflamed atopic canine skin." Veterinary dermatology **17**(2): 151-154.

Miller, WH, Griffin, GE, Campbell, KL (2013). Diagnostic Methods. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology Elsevier: 84-87.

Morris, DO, Boston, RC, O'Shea, K, Rankin, SC (2010). "The prevalence of carriage of methicillin-resistant staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets." Veterinary dermatology **21**(4): 400-407.

Murakami, K, Minamide, W, Wada, K, Nakamura, E, Teraoka, H, Watanabe, S (1991). "Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction." Journal of clinical microbiology **29**(10): 2240-2244.

Murchan, S, Kaufmann, ME, Deplano, A, de Ryck, R, Struelens, M, Zinn, CE, Fussing, V, Salmenlinna, S, Vuopio-Varkila, J, El Solh, N, Cuny, C, Witte, W, Tassios, PT, Legakis, N, van Leeuwen, W, van Belkum, A, Vindel, A, Laconcha, I, Garaizar, J, Haeggman, S, Olsson-Liljequist, B, Ransjö, U, Coombes, G, Cookson, B (2003). "Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains." J Clin Microbiol **41**(4): 1574-1585.

Murphy, C, Reid-Smith, RJ, Prescott, JF, Bonnett, BN, Poppe, C, Boerlin, P, Weese, JS, Janecko, N, McEwen, SA (2009). "Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study." The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne **50**(10): 1047-1053.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, N (2004). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, informational supplement M31-S1. NCCLS, Wayne, PA.

Nienhoff, U, Kadlec, K, Chaberny, IF, Verspohl, J, Gerlach, GF, Kreienbrock, L, Schwarz, S, Simon, D, Nolte, I (2011). "Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital." Veterinary microbiology **150**(1-2): 191-197.

Papich, MG (2012). "Selection of antibiotics for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: time to revisit some old drugs?" Veterinary Dermatology **23**(4): 352-e364.

- Paul, NC, Bargman, SC, Moodley, A, Nielsen, SS, Guardabassi, L (2012). "Staphylococcus pseudintermedius colonization patterns and strain diversity in healthy dogs: a cross-sectional and longitudinal study." Veterinary microbiology **160**(3-4): 420-427.
- Paul, NC, Moodley, A, Ghibaud, G, Guardabassi, L (2011). "Carriage of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission." Zoonoses and public health **58**(8): 533-539.
- Perreten, V, Chanchaithong, P, Prapasarakul, N, Rossano, A, Blum, SE, Elad, D, Schwendener, S (2013). "Novel pseudo-staphylococcal cassette chromosome mec element (psiSCCmec57395) in methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius CC45." (1098-6596 (Electronic)).
- Perreten, V, Kadlec, K, Schwarz, S, Gronlund Andersson, U, Finn, M, Greko, C, Moodley, A, Kania, SA, Frank, LA, Bemis, DA, Franco, A, Iurescia, M, Battisti, A, Duim, B, Wagenaar, JA, van Duijkeren, E, Weese, JS, Fitzgerald, JR, Rossano, A, Guardabassi, L (2010). "Clonal spread of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in Europe and North America: an international multicentre study." The Journal of antimicrobial chemotherapy **65**(6): 1145-1154.
- Portner, JA, Johnson, JA (2010). "Guidelines for reducing pathogens in veterinary hospitals: disinfectant selection, cleaning protocols, and hand hygiene." Compendium (Yardley, PA) **32**(5): E1-11; quiz E12.
- Rantala, M (2011). "MRSP esittäytyy" Suomen eläinlääkärilehti **9**(9/2011): 592-595.
- Ruscher, C, Lubke-Becker, A, Semmler, T, Wleklinski, CG, Paasch, A, Soba, A, Stamm, I, Kopp, P, Wieler, LH, Walther, B (2010). "Widespread rapid emergence of a distinct methicillin- and multidrug-resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) genetic lineage in Europe." Veterinary microbiology **144**(3-4): 340-346.
- Ruscher, C, Lubke-Becker, A, Wleklinski, CG, Soba, A, Wieler, LH, Walther, B (2009). "Prevalence of Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius isolated from clinical samples of companion animals and equidae." Veterinary microbiology **136**(1-2): 197-201.
- Saijonmaa-Koulumies, L, Parsons, E, Lloyd, DH (1998). "Elimination of Staphylococcus intermedius in healthy dogs by topical treatment with fusidic acid." The Journal of small animal practice **39**(7): 341-347.
- Saijonmaa-Koulumies, LE, Lloyd, DH (2002). "Colonization of neonatal puppies by Staphylococcus intermedius." (0959-4493 (Print)).
- Saijonmaa-Koulumies, LE, Myllys, V, Lloyd, DH (2002). "Diversity and stability of the Staphylococcus intermedius flora in three bitches and their puppies  
Adherence of Staphylococcus intermedius to canine corneocytes in vitro  
Colonization of neonatal puppies by Staphylococcus intermedius." (0950-2688 (Print)).
- Sasaki, T, Kikuchi, K, Tanaka, Y, Takahashi, N, Kamata, S, Hiramatsu, K (2007). "Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in a veterinary teaching hospital." Journal of clinical microbiology **45**(4): 1118-1125.
- Sasaki, T, Kikuchi, K, Tanaka, Y, Takahashi, N, Kamata, S, Hiramatsu, K (2007). "Reclassification of phenotypically identified staphylococcus intermedius strains." Journal of clinical microbiology **45**(9): 2770-2778.
- Sasaki, T, Tsubakishita, S, Tanaka, Y, Sakusabe, A, Ohtsuka, M, Hirotaki, S, Kawakami, T, Fukata, T, Hiramatsu, K (2010). "Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci." Journal of clinical microbiology **48**(3): 765-769.
- Schissler, JR, Hillier, A, Daniels, JB, Cole, LK, Gebreyes, WA (2009). "Evaluation of Clinical Laboratory Standards Institute interpretive criteria for methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius isolated from dogs." Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc **21**(5): 684-688.

Scott, DW, Miller, WH, Griffin, CE (2001). Bacterial skin infections. Muller and Kirks Small Animal Dermatology. Philadelphia, W. B. Saunders: 274-335.

Simou, C, Thoday, K, Forsythe, PJ, Hill, PB (2005). "Adherence of Staphylococcus intermedius to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender." (0959-4493 (Print)).

Soares Magalhaes, RJ, Loeffler, A, Lindsay, J, Rich, M, Roberts, L, Smith, H, Lloyd, DH, Pfeiffer, DU (2010). "Risk factors for methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study." Veterinary research **41**(5): 55.

Solyman, SM, Black, CC, Duim, B, Perreten, V, van Duijkeren, E, Wagenaar, JA, Eberlein, LC, Sadeghi, LN, Videla, R, Bemis, DA, Kania, SA (2013). "Multilocus sequence typing for characterization of Staphylococcus pseudintermedius." Journal of clinical microbiology **51**(1): 306-310.

Todar, K (2012). Staphylococcus aureus and Staphylococcal disease. Todar's Online Text Book of Bacteriology: 1-6.

Valentine, BK, Dew, W, Yu, A, Weese, JS (2012). "In vitro evaluation of topical biocide and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus pseudintermedius from dogs." Veterinary dermatology **23**(6): 493-e495.

Walther, B, Hermes, J, Cuny, C, Wieler, LH, Vincze, S, Abou Elnaga, Y, Stamm, I, Kopp, PA, Kohn, B, Witte, W, Jansen, A, Conraths, FJ, Semmler, T, Eckmanns, T, Lubke-Becker, A (2012). "Sharing more than friendship--nasal colonization with coagulase-positive staphylococci (CPS) and co-habitation aspects of dogs and their owners." PloS one **7**(4): e35197.

van Duijkeren, E, Catry, B, Greko, C, Moreno, MA, Pomba, MC, Pyorala, S, Ruzauskas, M, Sanders, P, Threlfall, EJ, Torren-Edo, J, Torneke, K, Scientific Advisory Group on, A (2011). "Review on methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius." The Journal of antimicrobial chemotherapy **66**(12): 2705-2714.

van Duijkeren, E, Houwers, DJ, Schoormans, A, Broekhuizen-Stins, MJ, Ikawaty, R, Fluit, AC, Wagenaar, JA (2008). "Transmission of methicillin-resistant Staphylococcus intermedius between humans and animals." Veterinary microbiology **128**(1-2): 213-215.

van Duijkeren, E, Kamphuis, M, van der Mije, IC, Laarhoven, LM, Duim, B, Wagenaar, JA, Houwers, DJ (2011). "Transmission of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics." Veterinary microbiology **150**(3-4): 338-343.

Weese, JS (2010). "Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in animals." ILAR journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources **51**(3): 233-244.

Weese, JS, van Duijkeren, E (2010). "Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius in veterinary medicine." Veterinary microbiology **140**(3-4): 418-429.

Vengust, M, Anderson, ME, Rousseau, J, Weese, JS (2006). "Methicillin-resistant staphylococcal colonization in clinically normal dogs and horses in the community." Letters in applied microbiology **43**(6): 602-606.

Wertheim, HF, Melles, DC, Vos, MC, van Leeuwen, W, van Belkum, A, Verbrugh, HA, Nouwen, JL (2005). "The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections." The Lancet infectious diseases **5**(12): 751-762.

Wilhem, S, Kovalik, M, Favrot, C (2011). "Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis." Veterinary Dermatology **22**(1365-3164 (Electronic)): 143-149.

Windahl, U, Reimegard, E, Holst, BS, Egenvall, A, Fernstrom, L, Fredriksson, M, Trowald-Wigh, G, Andersson, UG (2012). "Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs--a longitudinal study." BMC veterinary research **8**: 34-6148-6148-6134.

Young, R, Buckley, L, McEwan, N, Nuttall, T (2012). "Comparative in vitro efficacy of antimicrobial shampoos: a pilot study." Veterinary dermatology **23**(1): 36-40, e38.

## VIII LIITTEET

### Liite 1.

#### **Metisilliini-resistantin *S. pseudintermediuksen* (MRSP) ja metisilliini-resistantin *S. aureuksen* (MRSA) esiintyminen Opaskoirakoulun koirilla -taustatiedot**

1. Koiran nimi \_\_\_\_\_
2. Koiran rotu:
  - a. ☐ labradorinnoutaja ☐ b. kultainennoutaja
  - b. ☐ muu, mikä \_\_\_\_\_
3. Syntymäaika (pp/kk/yyyy) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
4. Sukupuoli: ☐ uros ☐ narttu
5. Opaskoirakoulun: ☐ oma kasvatti ☐ ostokoira
6. Koiraryhmä  
☐ Opas ☐ Koulutusvaihe ☐ Siitoskoira
7. Hoito- ja sairaushistoria
  - a. Aiempi sairaalahoito (≥24 h) ☐ kyllä ☐ ei ☐ ei tietoa
  - b. Eläinlääkärikäyntien lukumäärä edellisen 12 kk:n aikana
    - i. \_\_\_\_ kpl
    - ii. ☐ ei tietoa
  - c. Aiempia iho- tai korvaoireita ☐ kyllä ☐ ei ☐ ei tietoa
  - d. Systeeminen ja paikallinen antibioottihoito edellisen 12 kk:n aikana  
☐ kyllä ☐ ei ☐ ei tietoa
  - e. Jos vastasi d-kohtaan kyllä: antibioottikuurien lukumäärä edellisen 12 kk:n aikana
    - i. \_\_\_\_ kpl
    - ii. ☐ ei tietoa
  - f. Systeeminen glukokortikoidihoito edellisen 12 kk:n aikana

☐ kyllä      ☐ ei      ☐ ei tietoa

**g. Muu immunosuppressiivinen lääkitys edellisen 12 kk:n aikana**

☐ kyllä      ☐ ei      ☐ ei tietoa